Untersuchungen über den Einfluß einer Erhitzung von Proteinen auf die Aminosäurenverdaulichkeit und biologische Wertigkeit

Ilona Gunsser

1972

Aus dem Institut für Tierphysiologie der Universität München
(Vorstand: Prof. DDr. DDr. h. c. Johannes Brüggemann)
und dem Institut für Ernährungsphysiologie an der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. Jürgen Tiews)

Untersuchungen über den Einfluß einer Erhitzung von Proteinen auf die Aminosäurenverdaulichkeit und biologische Wertigkeit

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ilona Gunsser

aus Stuttgart

München 1972

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr.J. Boessnek

Referent: Prof.DDr.DDr.h.c.Johs. Brüggemann

Korreferent: Priv. Doz. Dr. W. Kreuzer

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 14. 7. 1972

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A EINLEITUNG	1
B BESPRECHUNG DER LITERATUR	3
C EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
I. Untersuchungsmethoden	
1. Rohproteinbestimmung	1o
2. Aminosäurenanalysen	11
3. Verdaulichkeitsversuche	12
4. Biologische Wertigkeit, wahre Verdaulichkeit, Net Protein Utilization (NPU)	15
5. Abbau von Fruktoselysin durch die Darmflora	18
II. Ergebnisse	
1. Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit von Modellgemischen	
a. Erhitzung von Sojaprotein bei verschiedenen Temperaturen (95°,138°-146° und 16o° C) - Versuch I -	21
b. Casein allein und zusammen mit Glukose bei 138° C autoklaviert - Versuch II -	26
c. Autoklavierung von Casein allein und zusammen mit Fett bzw. oxidiertem Fett bei 138° C - Versuch III -	29
d. Erhitzung von Casein allein und zusammen mit Fett bei 11o° C - Versuch IV -	32
2. Biologische Wertigkeit und wahre Verdaulichkeit von hitzebehandelten Modellgemischen aus Casein mit Glukose	35
3. Untersuchungen zum Abbau von Fruktoselysin durch die Darmflora	38
III. Diskussion und Schlußfolgerungen	
1. Untersuchungsverfahren	4o
2. Ergebnisse	43
D ZUSAMMENFASSUNG	48
E LITERATURVERZEICHNIS	51
LEBENSLAUF	63

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546017_0082

A EINLEITUNG

Seitdem der Aminosäurenbedarf der verschiedenen Nutztierarten weitgehend bekannt ist, und die Möglichkeit zur raschen Feststellung des Aminosäurengehaltes bei den wichtigsten Futtermitteln besteht, scheint die optimale Aminosäurenversorgung nur noch ein rechnerisches und wirtschaftliches Problem zu sein. Dies setzt jedoch voraus, daß alle im Protein enthaltenen Aminosäuren im Verdauungstrakt vollständig freigesetzt und anschließend resorbiert werden können und auf diese Weise für den Organismus voll verfügbar sind. Dies ist jedoch nicht immer der Fall. Verschiedene Herstellungs-, Aufbereitungs- oder Konservierungsverfahren können die Verfügbarkeit einzelner Aminosäuren entsprechend vermindern. Vor allem bei Anwendung von Hitze oder auch bei langdauernder Lagerung kann es unter ungünstigen Umständen (z. B. Anwesenheit reduzierender Substanzen, optimaler Wassergehalt für die Reaktionsbedingungen u. a.) zu einer beträchtlichen Verminderung der Proteinqualität kommen.

Die entsprechenden Veränderungen am Eiweißmolekül lassen sich dabei aufgrund des komplizierten und variierenden Aufbaus der Proteine und der verschiedenartigen übrigen Bestandteile des Futters sowie wegen der unterschiedlichen Behandlungsverfahren nicht oder nur schwer voraussagen. Als Ursache der Nährwertminderung kann allgemein die Bildung enzymresistenter Bindungen funktioneller Gruppen im Protein mit anderen Futterbestandteilen und innerhalb des Proteinmoleküls angesehen werden. Durch die einer Aminosäurenanalyse vorausgehende Hydrolyse des Eiweißes mittels Säuren oder Laugen werden derartige Bindungen zumeist wieder aufgeschlossen. Die Verfügbarkeit der Aminosäuren kann somit exakt nur über den biologischen Versuch ermittelt werden.

In der vorliegenden Arbeit wird über Untersuchungen zur Bestimmung der Verdaulichkeit und der Biologischen Wertigkeit berichtet. Als Untersuchungsmaterial dienten unter

verschiedenen Bedingungen hitzebehandelte Eiweißgemische. Weiterhin wurde ein während der Erhitzung von Eiweiß in Anwesenheit von reduzierenden Zuckern entstandenes Kondensationsprodukt (Fruktoselysin) auf seine Spaltbarkeit durch Mikroorganismen des Verdauungstraktes untersucht.

B BESPRECHUNG DER LITERATUR

Die Anwesenheit von Stickstoff in allen Geweben des tierischen Organismus stellte erstmals FOUCROY 1795 (32) fest. Einige Jahre später gelang es MAGENDIE (45) nachzuweisen, daß stickstoffhaltige Nahrungsmittel für den tierischen Organismus unentbehrlich sind. Hunde, die ausschließlich mit verschiedenen, stickstofffreien Nahrungskomponenten wie Zucker und Öl gefüttert wurden, starben bereits nach kurzer Versuchsdauer. Über den unterschiedlichen Nährwert von Gelatine und Fleisch berichteten bereits 1832 EDWARDS und BALZAC (18). MAGENDIE erklärte 1841 (46), daß die Gelatine für die tierische Ernährung ungeeignet sei. Dennoch galt bis zum Ende des 19. Jahrhunderts die Lehrmeinung, daß der Wert einer eiweißhaltigen Nahrung unmittelbar ihrem Gehalt an Stickstoff entspreche (z. B. 44, 61).

Im Gegensatz zu dieser Gleichheitstheorie der Eiweiße wies RUBNER (77, 78) als einer der ersten auf die Unterschiede im Nährwert verschiedener Nahrungsproteine hin. Er erklärte dies allerdings mit einer unterschiedlichen Verdaulichkeit, die in Abhängigkeit vom Rohfasergehalt zu sehen sei. Erst nachdem KOSSEL und KUTSCHER (41) festgestellt hatten, daß das Eiweiß aus einzelnen definierten Bausteinen, den Aminosäuren, zusammengesetzt ist und daß große Unterschiede im Aminosäurengehalt verschiedener Proteine bestehen, waren die Voraussetzungen zum Verständnis der beobachteten Variabilität gegeben. KAUFMAN (4o), WILCOCK und HOPKINS und besonders OSBORNE und MENDEL (64, 65, 66) führten die ersten Studien über die Unentbehrlichkeit einiger Aminosäuren für den tierischen Organismus durch. 1936 gelang es dann ROSE und seinen Mitarbeitern (49, 75, 76) durch Isolierung und Identifizierung des Threonins die Lücke in der Reihe der von ihm "essentiell" genannten Aminosäuren zu schließen.

Gleichzeitig mit den Untersuchungen zur Erforschung der Ursachen für den unterschiedlichen Nährwert eiweißhaltiger Nahrungs- und Futtermittel wurden Methoden zur exakten Bestimmung der Qualität eines Nahrungsproteins entwickelt.

Bereits 1909 führte THOMAS (94) Untersuchungen zur Ermittlung der "Biologischen Wertigkeit" durch. Die Grundlagen hierfür waren in einer Reihe von Stickstoffbilanzversuchen (29, 63, 96, 101) bzw. in Arbeiten über den endogenen Stickstoffverlust - auch Stickstoff-Abnutzungsquote (79) oder endogener Proteinumsatz genannt - geschaffen worden. Dabei hatte man festgestellt, daß bei Fütterung gleicher Eiweißmengen an ausgewachsene Versuchstiere sich nach einer gewissen Anpassungszeit ein Gleichgewicht zwischen der Stickstoffaufnahme und der Stickstoffausscheidung einstellt. Wenn sich die Eiweißzufuhr innerhalb physiologischer Grenzen bewegt, dann ist das Niveau dieses Gleichgewichts von der aufgenommenen Stickstoffmenge abhängig. Wird ein gewisser Mindestwert der Eiweißzufuhr (Eiweißminimum) unterschritten, so wird die Stickstoffbilanz negativ, d. h. die Stickstoffausscheidung als Folge des Um- oder Abbaus von Körpereiweiß (endogener Stickstoffverlust) ist größer als die Aufnahme. Es wurde somit damals schon angenommen, daß ein basaler Stickstoffumsatz bestehe, dessen minimale Größe beim erwachsenen, stickstofffrei, jedoch kalorisch ausreichend versorgten Organismus, durch den Harnstickstoff charakterisiert wird.
Auf der Basis der vorhandenen Untersuchungen entwickelte THOMAS (94) eine Methode zur Bestimmung der Mindestmenge an Nahrungsstickstoff, die beim erwachsenen Menschen ein N-Gleichgewicht gerade noch aufrecht erhält. Dieser Minimalbedarf erwies sich in zahlreichen Versuchen an verschiedenen Nahrungsmitteln als umgekehrt proportional zum Nährwert bzw. zur sogenannten Biologischen Wertigkeit des Proteins. MITCHELL übertrug dieses Konzept auf die wachsende Ratte und verbesserte bzw. standardisierte das Untersuchungsverfahren (53, 54, 55, 56, 58). Unter Berücksichtigung der endogenen Stickstoffausscheidung im Kot definierte er die Biologische Wertigkeit in ihrem heute noch gültigen

Sinn als den Teil des aus dem Futter resorbierten Stickstoffes, der vom Körper retiniert wird. Die Retention des Stickstoffs kann dabei entweder als Zubildung an Körpergewebe beim wachsenden Tier oder im Verlauf der "repletion" (Wiederauffüllung) der Proteinbestände beim erwachsenen Organismus erfolgen.
Als weitere Größe zur Beurteilung der Proteinqualität kann man aus dem Produkt von Biologischer Wertigkeit und wahrer Verdaulichkeit die Net Protein Utilization (NPU) berechnen. Dieser Wert drückt das Verhältnis des im Körper retinierten zum aufgenommenen Stickstoff aus. Die Erfassung des retinierten Stickstoffs kann über das oben erwähnte Bilanzverfahren sowie auch direkt über Ganzkörperanalysen (z. B. 51) erfolgen.

Diese Stickstoffbilanzmethoden (Biologische Wertigkeit, Verdaulichkeit, NPU) stellen neben der im Wachstumsversuch festgestellten Protein Efficiency Ratio (PER) (z. B. 64, 65, 66) heutenoch die am häufigsten angewandten biologischen Verfahren zur Ermittlung der Proteinqualität dar (s. auch 8o, 87, 1o3). Allerdings informieren alle diese Methoden lediglich über den Gesamtnährwert eines Proteins. Über die Ursache etwaiger Qualitätsunterschiede erhoffte man durch Bestimmung des Gehaltes an essentiellen Aminosäuren weiteren Aufschluß zu erhalten. Seit der Einführung automatischer Apparaturen (93) sind die Möglichkeiten zur routinemäßigen Bestimmung des Aminosäurengehaltes in Nahrungs- und Futtermitteln gegeben. Tatsächlich fanden MITCHELL und BLOCK (sogenannter Chemical Score (57)) sowie OSER (sogenannter Essential Amino Acid Index (67)) enge Beziehungen zwischen den von ihnen erarbeiteten Methoden zur Vorausberechnung der Proteinqualität aus dem Aminosäurenmuster und der Biologischen Wertigkeit. Doch auch sie betonen bereits, daß diese Berechnungsverfahren nur bei adäquater Verdaulichkeit des Proteins bzw. bei unveränderter Verfügbarkeit der Aminosäuren gelten.

COHNHEIM entdeckte das damals noch als einheitliches Verdauungsenzym angesehene Erepsin und bewies (12), daß bei der enzymatischen Aufspaltung von Proteinen freie Aminosäuren entstehen. Weiterhin konnte COHNHEIM zeigen, daß Proteine in Form ihrer Bausteine und nicht direkt bzw. intakt resorbiert werden. Heute weiß man, daß die Proteinverdauung bereits im Magen mit der Denaturierung des Eiweißes beginnt, soweit dies nicht bereits vor der Aufnahme geschehen ist. Anschließend werden die großen Proteinmoleküle durch die Einwirkung der Verdauungsenzyme stufenweise zu den einzelnen Aminosäuren abgebaut. Alle an der Verdauung beteiligten Proteasen sind Hydrolasen, die zumeist spezifisch auf bestimmte funktionelle Gruppen der Peptidketten eingestellt sind. So spaltet Trypsin, eines der wichtigsten Verdauungsenzyme, Proteine in der Mitte der Peptidkette nur am Lysin und Arginin. Es werden dadurch Peptide mit basischen Aminogruppen in der carboxylterminalen Stellung gebildet, die wiederum Codemerkmale für die Carboxypeptidase B enthalten. Sind diese Spezifitätsgruppen infolge der bei Erhitzung von Proteinen auftretenden Vernetzung für die Proteasen nicht zugänglich, oder ist z. B. im Falle des Trypsins die entständige Aminogruppe der basischen Aminosäuren Lysin und Arginin blockiert, so können die entsprechenden proteolytischen Enzyme nicht wirken.

Die frei im Dünndarm befindlichen Aminosäuren werden im allgemeinen als für den Körper verfügbar angesehen. Damit wäre die Aminosäurenverfügbarkeit gleichbedeutend mit der Verdaulichkeit bzw. "Absorbierbarkeit" der Aminosäuren. Im Gegensatz zu der im allgemeinen üblichen Bestimmung der Verdaulichkeit des Gesamtstickstoffs ermittelten KUIKEN und LYMANN (42) als Erste die scheinbare Aminosäurenverdaulichkeit. Als Versuchstiere verwendeten sie Ratten. In der Folgezeit wurde mit Verbesserung und Beschleunigung der Aminosäurenanalytik diese Methode immer häufiger, unter anderem auch beim Schwein und Huhn, angewandt (z. B. 13, 14,

19, 36, 7o, 71, 72). Als Nachteile dieses Verfahrens sind die unter den verschiedenen Bedingungen nicht zu messenden Anteile an Protein endogener Herkunft im Kot und die Veränderungen im Protein durch die Einwirkung der Mikroorganismen im Darm zu nennen (s. hierzu auch Seite 41). Um eine Beeinträchtigung der Verdaulichkeitsergebnisse durch die Wirkung von Mikroorganismen auszuschalten, verwendeten manche Autoren Antibiotika und Sulfonamide oder versuchten den Darminhalt zur Bestimmung der Aminosäurenverdaulichkeit in den oberen Abschnitten des Verdauungstraktes zu gewinnen (z. B. 69, 92, 95, 97).

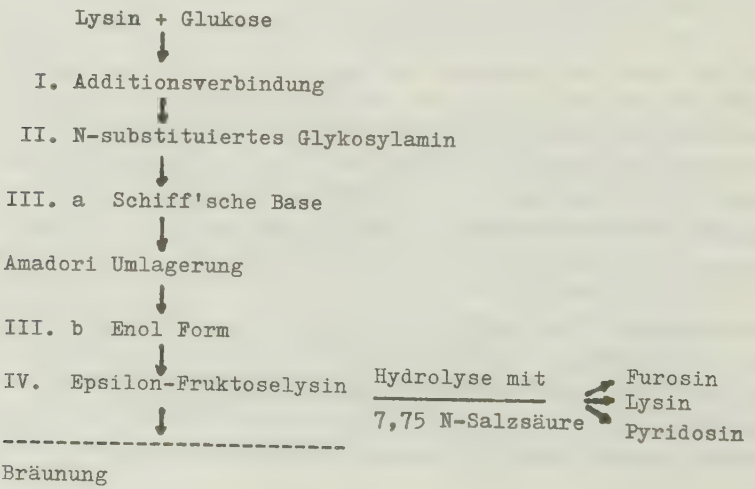
Eine Hitzebehandlung während der Herstellung oder Aufbereitung von Nahrungs- und Futtermitteln kann sich sehr leicht schädigend auf die Proteinqualität auswirken (s. hierzu u. a. 5, 1o, 16, 17, 21, 22, 34, 5o, 73, 74, 88, 89, 9o, 95, 1o2). Neben der erst bei relativ hohen Temperaturen (über 15o°) einsetzenden totalen Aminosäurenzerstörung kann es schon bei Temperaturen unter 1oo° C zu einer Schädigung durch Inaktivierung von Aminosäuren kommen. Ursache dieser Inaktivierung sind Umsetzungen funktioneller Gruppen im Protein mit verschiedenen anderen raktionsfähigen Bestandteilen der Nahrung oder des Futters.

Bei Erhitzung von Proteinen allein treten intra- und intermolekulare Bindungen auf, die von den Enzymen des Verdauungstraktes nicht mehr angegriffen werden können. Beteiligt an diesen durch Säurehydrolyse jedoch wieder spaltbaren Bindungen sind neben dem Lysin vornehmlich Threonin und Serin sowie die Monoaminodicarbonsäuren Glutaminsäure und Asparaginsäure samt ihren Amiden (5, 6, 8, 15, 2o).

Die Umsetzungen der Aminosäuren und Proteine mit reduzierenden Zuckern (Maillard-Reaktion) sind zumindest im Initialstadium weitgehend bekannt. Besonders betroffen wird hierbei die essentielle Aminosäure Lysin, deren aus dem Proteinverband herausragende epsilon-Aminogruppe mit der Aldehyd -

gruppe verschiedener Zucker reagieren kann. Bei Umsetzung von Lysin mit Glukose oder Laktose (Galaktosido-Glukose) entstehen verschiedene Zwischenprodukte (s. Formelschema), die sich zunächst in Fruktoselysin bzw. Laktuloselysin (Galaktosido-Fruktoselysin) umlagern. Lysin, dessen alpha-Aminogruppe in der Peptidkette verknüpft ist, reagiert nur mit der epsilon-Aminogruppe zu epsilon-Fruktoselysin. Bei weiterer bzw. verstärkter Hitzebehandlung kommt es unter Bräunung zur Weiterreaktion im Endstadium der Maillard-kondensation, wobei Lysin total zerstört wird (21, 28, 37). Zum Nachweis des sehr instabilen Fruktoselysin dient ein vor ca. 6 Jahren (27) erstmals beschriebenes, durch die Bedingungen der salzsauren Hydrolyse entstandenes Folge-produkt des epsilon-Fruktoselysins, das Furosin. Hierbei handelt es sich um ein Lysinderivat des Acetylfurans, das im Ionenaustauschchromatogramm nach dem Arginin auftritt. Das Fruktoselysin wird durch ein besonderes Hydrolysenver-fahren (23) gut reproduzierbar bis 40% in Furosin umgewan-delt. Der Rest des Fruktoselysin wird wieder in Lysin rück-gespalten.

Schema: Initialstadium der Maillardreaktion



Wenn man voraussetzt, daß Fruktoselysin ernährungsphysiologisch nicht genutzt werden kann, würde der Furosingehalt ein guter Indikator für die während einer Hitzebehandlung erfolgende Lysinschädigung in glukose- und laktosehaltigen Nahrungs- und Futtermitteln sein. Neben Fragen über die Resorbierbarkeit, Metabolisierung und Ausscheidung von Fruktoselysin ist es in diesem Zusammenhang von Bedeutung, ob die im Enddarm vorkommenden Mikroorganismen Fruktoselysin metabolisieren können.

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In der vorliegenden Arbeit wird über Versuche zur Bestimmung der Rohprotein- und Aminosäurenverdaulichkeit bzw. der Biologischen Wertigkeit bei unterschiedlich hitzebehandelten Proteinen berichtet. Zur Untersuchung gelangten Säurecasein oder isoliertes Sojaprotein, die allein bzw. zum Teil zusammen mit Fett, oxidiertem Fett bzw. Glukose hitzebehandelt wurden.
Weiterhin wurde untersucht, ob epsilon-Fruktoselysin, ein wichtiges Zwischenprodukt, das bei der Umsetzung von Lysin mit Glukose oder Laktose im Initialstadium der Maillardkondensation entsteht, durch Mikroorganismen aus dem Verdauungstrakt von Ratten gespalten werden kann.

I. Untersuchungsmethoden

1. Rohproteinbestimmung nach Kjeldahl

   a. Im Futter, Kot und Harn
   (Verbandsmethode des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalten)

Etwa 1 - 2 g Substanz (analytisch gewogen) wurden in einem Kjeldahlkolben mit 3o ml stickstofffreier, konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz von 1 g Kupfersulfat und 2o g Kaliumsulfat zunächst vorsichtig erhitzt und dann längere Zeit am Sieden erhalten, bis die Flüssigkeit klar und hellgrün war. Danach wurde der Aufschluß noch mindestens eine Stunde lang bei Siedetemperatur der Flüssigkeit (34o - 35o°C s. hierzu auch RUFEGER 81, 82) fortgesetzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 2oo - 3oo ml destilliertem Wasser verdünnt. Dann wurde der Kjeldahlkolben mit dem Destillationsapparat verbunden, der Inhalt mit einem Überschuß an konzentrierter Natronlauge stark alkalisch gemacht und das Ammoniak in eine Vorlage mit o,5 N-Schwefelsäure überdestilliert. Die verbrauchte Schwefelsäure wurde durch Titration mit o,25 n Natronlauge ermittelt. Zur Berechnung des Eiweißgehaltes wurde stets der Faktor 6,25 verwandt.

b. In Proteinhydrolysaten

5o ml Hydrolysat wurden mit konzentrierter Schwefelsäure und 1 - 2 g Selenreaktionsgemisch (bestehend aus Kaliumsulfat, Quecksilbersulfat und Selen im Verhältnis 32:5:1) wie beim Makroverfahren erhitzt und weiterverarbeitet. Allerdings wurden hier als Vorlage o,1 n Salzsäure und zur Titration o,o5 n Natronlauge verwendet.

2. Aminosäurenanalysen

Der Aminosäurengehalt wurde nach salzsaurer Hydrolyse des Proteins mit Hilfe einer automatischen Apparatur nach dem Prinzip der Ionenaustauschchromatographie (SPACKMAN, STEIN und MOORE, 93) bestimmt. Dazu wurden 5oo mg (analytisch gewogen) des analysenfein gemahlenen, lufttrockenen Untersuchungsmaterials in 8oo ml 6 n Salzsäure unter Stickstoff 24 Stunden bei Siedetemperatur hydrolysiert. Anschließend wurde das Hydrolysat abgekühlt, mit Wasser auf 1ooo ml aufgefüllt und filtriert. Davon wurden nach Zugabe eines inneren Standards (Norleucin) je nach Proteingehalt 1oo bis 4oo ml im Vakuumrotationsverdampfer bei maximal 6o° C auf 2o - 3o ml eingeengt und schließlich in 1oo ml Citratpuffer pH 2,2 aufgenommen.

1 ml dieses analysenfertigen Proteinhydrolysats (angestrebter Gesamtsäurengehalt 1,5 - 2,5 mg) wurden mit Hilfe einer automatischen Apparatur zur Kurzzeitchromatographie[+] untersucht. Die sauren und neutralen Aminosäuren wurden an einer 6o cm langen, im Innendurchmesser 9 mm starken Ionenaustauschersäule[++] bei 5o° C Reaktionstemperatur aufgetrennt. Bis zur Elution des Alanins erfolgte die Auftrennung mit einem Citratpuffer pH 3,24 während Valin bis einschließlich Phenylalanin mit einem Citratpffer pH 4,3o eluiert wurden. Zur Bestimmung der basischen Aminosäuren und des Ammoniaks dienten eine 15 cm lange Säule, eine Reaktionstemperatur für den Ionenaustausch von 55° C und ein Citratpuffer pH 5,3o.

[+] Modell BC 2oo der Firma Bio-Cal, München

[++] Kationenaustauscher: Bio-Rad Aminex A 4

Das aus beiden Säulen bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 8o ml/h austretende Eluat wurde mit Ninhydrinreagenz im Verhältnis 2:1 vermischt und anschließend in einem kalibrierten Teflonschlauch auf 1oo° C erhitzt. Die Extinktion des sich hierbei entwickelnden blauvioletten Farbkomplexes aus dem Ninhydrin mit der Aminogruppe der entsprechenden Aminosäure wurde mit einem Durchflußcolorimeter bei einer Wellenlänge von 57o nm gemessen. Die Extinktion der sich bei der Reaktion des Prolins mit dem Ninhydrin bildenden rötlichgelben Farbe wurde mit einem zweiten Durchflußcolorimeter bei einer Wellenlänge von 44o nm gemessen.
Die Impulse der beiden Colorimeter wurden von einem Zweipunktschreiber auf ein Papier mit einer logarithmischen Einteilung (o,o - 2,o) senkrecht zum Papiervorschub aufgezeichnet. Die einzelnen getrennten Aminosäuren erschienen auf dem Chromatogramm als einzelne, einer Gaußschen Verteilungskurve ähnliche " Peaks ". Von diesen Peaks wurde die Höhe in Extinktionseinheiten und die Breite in halber Höhe (durch Messung, Angabe in mm, oder durch Zählen der über der halben Höhe gedrukten Punkte) gemessen. Die Höhe der Peaks wurde mit der Breite multipliziert (sogenannter HW-Wert). Die HW-Werte der einzelnen Aminosäuren aus Hydrolysaten mit unbekanntem Aminosäurengehalt wurden mit HW-Werten von Standardchromatogrammen aus Eichsubstanzen verglichen und daraus unter Berücksichtigung des Norleucinwerts, der Verdünnung des Hydrolysats und der Einwaage die Konzentration des Untersuchungsmaterials an der entsprechenden Aminosäure berechnet.

Cystin wurde durch 16-stündige Oxidation des Untersuchungsgutes mit Perameisensäure (59) in Cysteinsäure umgewandelt und nach Hydrolyse mit 6 n Salzsäure ebenfalls mit Hilfe der Ionenaustauschchromatographie quantitativ nachgewiesen.

3. Verdaulichkeitsversuche

Zur Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren wurden ca. 25o g schwere,weibliche

Albinoratten einzeln in Bilanzkäfigen[+] gehalten (88, s. Abb. 1). Diese Käfige bestehen aus Plexiglasrohren (Durchmesser 13 cm); dadurch geht kein Harn durch Verspritzen nach der Seite hin verloren. Deckel und Boden sind aus Drahtgeflecht. In den Futtergang (ein Plexiglasrohr mit einem Durchmesser von 5 cm) ist ein zylindrisches Drahtgeflecht so eingefügt, daß es nur nach unten eine Öffnung für den Kopf des Tieres zum Futter hin freiläßt. Die Maße sind so gewählt, daß das Tier den Futtergang weder mit Fäkalien verunreinigen noch Futter mit in den Käfig nehmen kann. Als Auffanggefäße für Harn und Kot dienen zwei verschieden große Schalen. In die kleinere der Schalen wird ein Kegel (Neigungswinkel 110^{o}) so eingepaßt, daß zwischen ihm und dem Schalenrand ein Spalt von 1 - 2 mm frei bleibt. Ein weiterer ca. 3 mm breiter Schlitz ist 1o mm vom Rand entfernt kreisförmig im Plastikkegel ausgespart. Die kleine Schale mit Kegel wird konzentrisch in die große Schale gestellt, so daß in dieser ein 15 mm breiter Ring für die Aufnahme des Kotes frei bleibt. Beide Gefäße werden genau unter den Käfig gestellt, so daß der Harn über den Kegel durch die Schlitze in die kleine Schale fließen kann, während der Kot in die große Schale rollt.

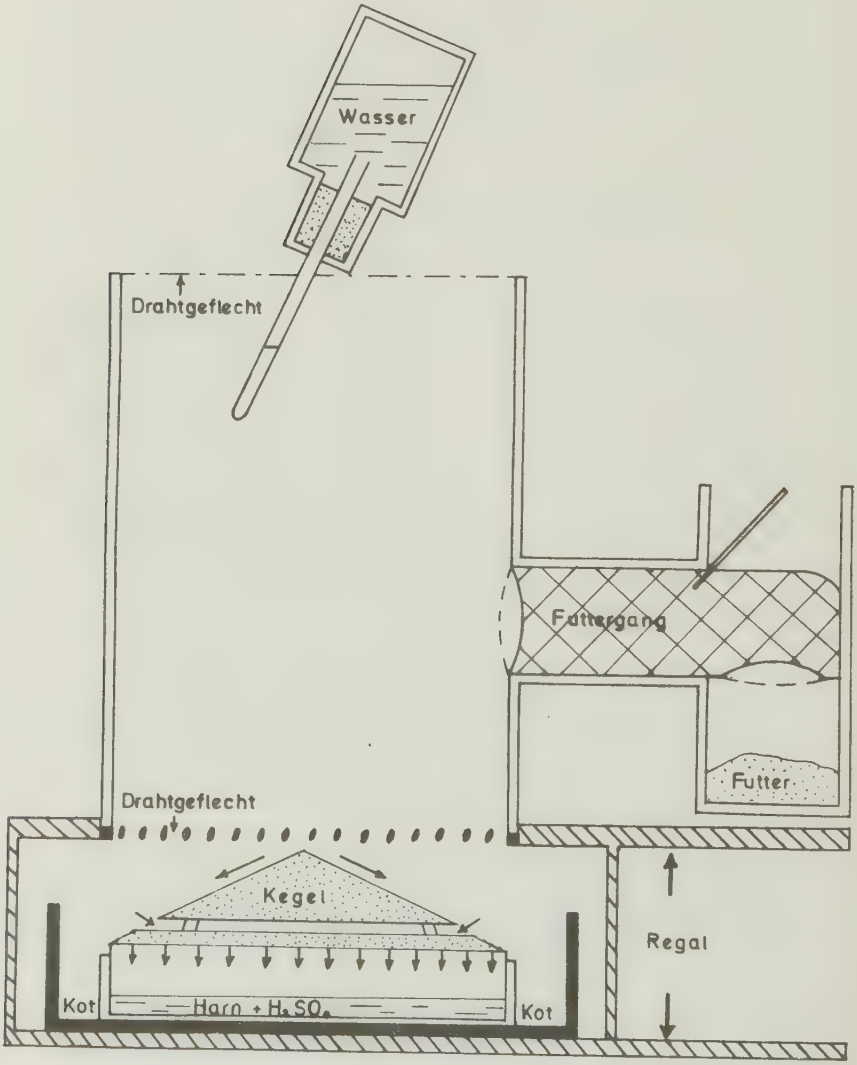
Vor Beginn der eigentlichen Bilanzversuche (Hauptperiode) wurden die Tiere mindestens fünf Tage lang an die soeben beschriebenen Käfige und das zu untersuchende Futter gewöhnt (= Vorperiode). Vor der Hauptperiode wurden die Käfige gereinigt und die Drahtgitter mit Siliconöl benetzt. Um evtl. verspritzten Harn aufzufangen, wurde der Boden der Kotschale mit einem Filterpapier ausgelegt. Den Boden der Harnschale bedeckte 1o%-ige Schwefelsäure. Der Kegel wurde täglich mit 1o%-iger Zitronensäure abgespült.

Die Versuchsgruppen bestanden aus vier Ratten. Jedes Tier erhielt täglich 1o g Futter (Ausnahme Versuch I s. S.21) zugewogen. Der Kot von je zwei Ratten derselben Gruppe

---

[+] Hergestellt im Institut für Tierernährung der Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkerode

Abb. 1 Stoffwechselkäfig nach Schiller.



wurde nach dem täglichen Sammeln vereinigt und sofort auf -2o°C eingefroren. Der Stickstoffgehalt und die Aminosäurenzusammensetzung des Kotes wurden in der bereits beschriebenen Art und Weise bestimmt (s. S.1of). Aus den erhaltenen Daten wurde die scheinbare Verdaulichkeit des Proteins bzw. der Aminosäuren wie folgt errechnet:

$$\text{Scheinbare Verdaulichkeit (Protein bzw. Aminosäuren)} = \frac{\text{Gehalt im Futter - Gehalt im Kot}}{\text{Gehalt im Futter}}$$

4. Biologische Wertigkeit, Wahre Verdaulichkeit, Net Protein Utilization (NPU)

Zur Bestimmung der Biologischen Wertigkeit des Eiweißes nach THOMAS und MITCHELL (55, 94) müssen Kot und Harn der Versuchstiere getrennt und quantitativ gesammelt werden. Hierzu war die kleinere Ausführung der bereits beschriebenen Bilanzkäfige gut geeignet. Für diese Bilanzversuche wurden wachsende, ca. 1oo g schwere, männliche Albinoratten über vier Tage an die Käfige und die Testmischungen gewöhnt. In der Vorperiode und während des sich anschließenden fünftägigen Hauptversuches erhielten die Tiere Futter und Wasser zur freien Aufnahme. Der Kot jeder einzelnen Ratte wurde täglich gesammelt und in einen Kjeldahlkolben mit 25 ml konzentrierter Schwefelsäure bis zur Analyse aufbewahrt.

Nach Beendigung des Versuches wurde dieser Inhalt des Kjeldahlkolbens zunächst unter Zugabe von sehr viel destilliertem Wasser (Überschäumen kann dadurch vermieden werden) erhitzt und danach mit Kupfersulfat, Kaliumsulfat und weiterer konzentrierter Schwefelsäure bis zum Klarwerden bei Siedetemperatur aufgeschlossen. Nach Abkühlung wurde in einen 5oo ml Meßkolben übergespült und aufgefüllt. Aus einem aliquoten Teil (5o ml) wurde nun die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl durchgeführt.
Um den gesamten Harn des Versuchstieres zu erhalten, wurden Drahtgitter, Kegel, Harnschale, Kotschale und der

Filter (Nr. 595) in einen 5oo ml fassenden Meßkolben quantitativ übergeführt. Der Meßkolben wurde mit Wasser aufgefüllt, ein aliquoter Teil (5o ml) des Inhaltes wurde zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet.

Der über den Harn bzw. Kot ausgeschiedene, endogene Stickstoff wurde vor und nach jeder Hauptperiode (zu prüfende Testmischung) bestimmt. Als Proteinquelle für diesen Vorversuch diente gefriergetrocknetes und anschließend entfettetes Hühnerei (Rohproteinbeitrag 4 %).
Der gesamte Versuchsablauf wird aus dem folgenden Schema ersichtlich:

Vorversuch: (Bestimmung der endogenen N-Ausscheidung)	- Vorperiode (4 Tage) - erste Hauptperiode (5 Tage)
Hauptversuch: (N-Bilanz der Testmischung)	- Vorperiode (4 Tage) - zweite Hauptperiode (5 Tage)
Nachversuch: (Bestimmung der endogenen N-Ausscheidung)	- Vorperiode (4 Tage) - dritte Hauptperiode (5 Tage)

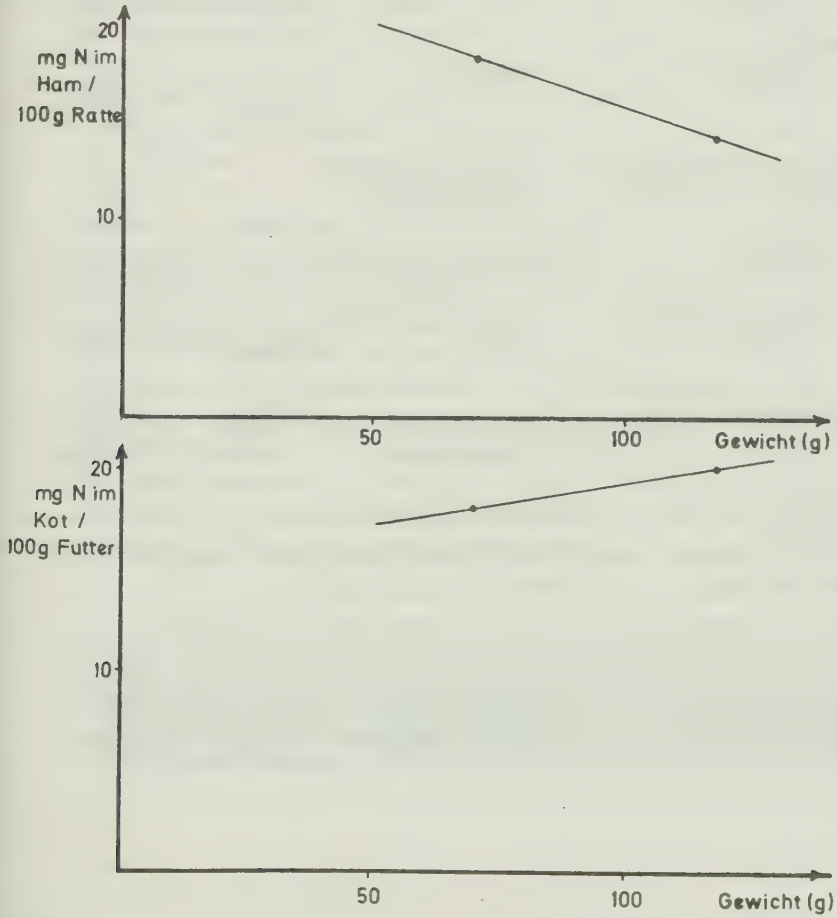
Jede Ratte wurde zu Beginn und am Ende der jeweiligen Hauptperiode gewogen. Aus den beiden Werten wurde das mittlere Gewicht während der Hauptperiode errechnet.

Die beiden im Vorversuch und Nachversuch für jede einzelne Ratte ermittelten Werte für die endogene Stickstoffausscheidung im Harn wurden in ein Koordinatensystem eingetragen und durch eine Gerade miteinander verbunden. In dem Koordinatensystem stellte die Abszisse das mittlere Gewicht jeder einzelnen Ratte während der Hauptperiode dar, während auf der Ordinate die endogene Stickstoffausscheidung über den Harn in mg Stickstoff pro 1oo g Ratte eingetragen wurde. Zur Berechnung der endogenen Stickstoffausscheidung über den Harn während des Hauptversuches (Testmischung) wurden auf der Basis des mittleren Gewichts des Einzeltieres aus dem genannten Diagramm die entsprechenden Werte abgelesen.

Abb. 2

Beispiel zur Berechnung der endogenen N-Ausscheidung in Harn und Kot. (Ratte Nr. x)

	Gewicht (Mittelwerte)	tägl. N-Ausscheidung im Harn / 100g Ratte	tägl. N-Ausscheidung im Kot / 100g Futter
Vorversuch	70 g	18 mg	18 mg
Nachversuch	118 g	14 mg	20 mg



Die endogene Stickstoffausscheidung im Kot wurde in ähnlicher Weise berechnet. Allerdings wurde bei dieser Berechnung neben dem Gewicht jeder Ratte (Abszisse) die im Kot ausgeschiedene Stickstoffmenge in mg pro 1oo g Futter (Ordinate) angegeben. Ein Beispiel für beide Berechnungsverfahren zeigt Abb. 2.

Die eigentlichen Ergebnisse wurden wie folgt berechnet:

$$\text{Wahre Verdaulichkeit} = \frac{N_{\text{absorbiert}} \times 1oo}{N_{\text{aufgenommen}}}$$

$$N_{\text{absorbiert}} = N_{\text{aufgenommen}} - N_{\text{im Kot aus dem Futter}}$$

$$N_{\text{im Kot aus dem Futter}} = N_{\text{gesamt im Kot}} - N_{\text{endogen ausgeschieden im Kot}}$$

$$\text{Biologische Wertigkeit} = \frac{N_{\text{retiniert}} \times 1oo}{N_{\text{absorbiert}}}$$

$$N_{\text{retiniert}} = N_{\text{absorbiert}} - N_{\text{im Harn aus dem Futter}}$$

$$N_{\text{im Harn aus dem Futter}} = N_{\text{gesamt im Harn}} - N_{\text{endogen ausgeschieden im Harn}}$$

$$\text{Net Protein Utilization} = \frac{N_{\text{retiniert}} \times 1oo}{N_{\text{aufgenommen}}} = \text{Wahre Verdaulichkeit} \times \text{Biologische Wertigk.}$$

5. Abbau von Fruktoselysin durch die Darmflora

Für diese Versuche wurde Protein aus einem stark hitzegeschädigten Milchpulver als Substrat herangezogen.

Zur Herstellung eines überhitzten Milchpulvers war Magermilch 4o Sekunden bei 73°C pasteurisiert und 45 Sekunden bei 5o°C evaporiert worden. Anschließend wurde die Milch für 45 Sekunden auf 82°C erhitzt und dann 3o Sekunden bei 66°C eingedampft. Diese eingedickte Milch gelangte mit 45°C in den Vorlauf der Walze. Die Walze wurde bei einem Dampfdruck von 3 atü gefahren. Das entsprach einer Temperatur auf der Walzenoberfläche von

120° C. Die Umlaufgeschwindigkeit derWalze wurde so weit verlangsamt, daß der Milchfilm 7 - 8 Sekunden auf der Walzenoberfläche verblieb. Dieses Magermilchpulver hatte einen Gehalt von 5,8 g/16 g N an Lysin und von 5,3 g/16 g N an Furosin.
50 g dieses überhitzten Magermilchpulvers wurden in Wasser gelöst. Anschließend wurde das Eiweiß mit einer 10%-igen, wässerigen Trichloressigsäurelösung ausgefällt, filtriert und der Rückstand gefriergetrocknet. Das so erhaltene fruktoselysinhaltige Milcheiweiß wurde bis zur weiteren Verwendung bei Zimmertemperatur in einer dicht verschlossenen Glasflasche gelagert.

Erwachsene Albinoratten wurden in Einzelkäfighaltung fünf Tage lang an ein Futter mit überhitztem Milchprotein als Proteinquelle adaptiert. Die Zusammensetzung des zur freien Aufnahme angebotenen Futters geht aus Tabelle 1 hervor. Danach wurde den Ratten in Äthernarkose der gesamte Blinddarm- und Dickdarminhalt entnommen. Für jeden Versuch wurde der Darminhalt von mehreren Tieren (4 - 10) mit einem auf 37° C erwärmten Phosphatpuffer+ suspendiert und auf 100 ml aufgefüllt. Dieser Aufschwemmung wurden unter Stickstoff bei ständigem Umrühren 2 g des Fruktoselysin enthaltenen Eiweißes zugesetzt. Anschließend wurde die Suspension auf zwei Zentrifugengläser aufgeteilt. Ein Zentrifugenglas enthielt zur Abtötung der Darmflora 1 ml einer gesättigten, wässrigen Sublimatlösung (Kontrolle). Der Inhalt beider Gefäße wurde unter Stickstoff bei 37° C (Wassertemperatur) bis zu 48 Stunden bebrütet. In Abständen von etwa sieben Stunden wurden von den beiden Inkubationsmedien jeweils 5 ml entnommen. Diese Teilproben wurden sechzehn Stunden lang mit 300 ml 8 n Salzsäure hydrolysiert (bei Siedetemperatur der Salzsäure). Danach wurden Teilproben des Hydrolysats auf den Gehalt an Stickstoff, Lysin und Furosin untersucht.

+ 37 ml einer Lösung von primärem Kaliumphosphat (0,9078 g KH_2PO_4 ad 100 aqua dest.) zusammen mit 63 ml einer Lösung von sekundärem Natriumphosphat(61,1876 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ad 100 aqua dest.) pH 7-7,1

Tab. 1 Futterzusammensetzung für Versuche zum Abbau von Fruktoselysin

Casein und Glukose erhitzt entsprechend einem Rohproteinbeitrag der Ration von	6o %
Zellulose	4 %
Sojaöl	4 %
Vitaminvormischung[+]	1 %
NaCl	o,5 %
Maisstärke	ad 1oo %

[+] s. Tabelle 2

II. Ergebnisse

1. Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit von Modellgemischen

a. Erhitzung von Sojaprotein bei verschiedenen Temperaturen (95°, 138° - 146° und 160° C)

- Versuch I -

Für Versuch I wurde isoliertes Sojaprotein (Purina Assay-Protein RP 100) mit einem gewichtsgleichen Anteil Wasser angerührt und in einer 3 cm dünnen Schicht auf emallierten Blechschalen im Luftstrom 24 Stunden bei 95°, 138 - 146° und 160° C erhitzt. Anschließend wurden die Proben fein gemahlen. Die auf 138° und 146° C erhitzten Pulver waren von gelbbrauner Farbe, während das auf 160° C erhitzte Protein bereits dunkelbraun gefärbt war. Von diesen hitzebehandelten Proteinen wurde die Rohprotein- und Aminosäurenzusammensetzung bestimmt.
Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, ist bei dem auf 138 - 146° C erhitzten Proteinen vor allem der Lysingehalt (- 8 %) vermindert. Dieser Verlust erhöht sich für die bei 160° C erhitzte Probe auf 16 %. Hier ist weiterhin der Gehalt der übrigen basischen Aminosäuren Arginin und Histidin sowie von Threonin und Serin erniedrigt.

Im Tierversuch erhielt jeweils eine Gruppe von 4 Tieren während der Vorperiode eine der erhitzten Chargen in einer Futtermischung, deren Zusammensetzung aus Tabelle 2 hervorgeht. Die Tiere konnten in dieser Anpassungszeit (s. S.13) das Futter ad libitum aufnehmen. Während der darauffolgenden Hauptperiode mußte die täglich angebotene Futtermenge abweichend von den übrigen Verdaulichkeitsversuchen auf 8 g pro Tier und Tag verringert werden, da die Ratten, denen die bei 160° C erhitzte Probe zugeteilt worden war, nicht mehr Futter am Tag aufnahmen und dennoch alle Tiere die gleiche Proteinmenge verzehren sollten. Da die bei 138° und 146° C erhitzten Proteine für einen Verdaulichkeitsversuch nicht mehr ausreichten, wurde eine Mischung aus gleichen Anteilen

Tab. 2 Zusammensetzung der Diäten

Versuch	Verdaulichkeit 1,2,4	Verdaulichkeit 3	Biologische Wertigkeit Hauptversuch	Biologische Wertigkeit Vor- u. Nachversuch
Proteinträger[+] entsprechend einem Rohproteinbeitrag d. Ration von	2o %	1o %	1o %	4 %
Glukose	2o %	2o %	1o %	1o %
Cellulose	4 %	4 %	4 %	4 %
Sojaöl	2 %	2 %	5%	5 %
Mineralstoffmischung[++]	6 %	6 %	6 %	6 %
Vitaminvormischung[+++]	1 %	1 %	1 %	1 %
Maisstärke ad	1oo %	1oo %	1oo %	1oo %

[+] Proteinträger waren Casein bzw. Sojaprotein

[++] Mineralstoffmischung: Entsprechend einem Zusatz pro kg Futter von: 15,o g $CaCO_3$, 14,o g $Ca_3(PO_4)_2$, 1o,o g K_2HPO_4 (sicc.), 8,o g NaCl, 7,o g Na_2HPO_4(sicc.), 5.o g $MgSO_4$. 7 H_2O, o.48 g Fe-Zitrat, o.45 g Mn SO_4 • $4H_2O$, o.o4 g Zn CO_3, o.o195 g Cu SO_4 • $5H_2O$, o.ooo5 g KJ, o.o1o g Na F

[+++] Vitaminvormischung: Entsprechend einem Zusatz pro kg Futter von: 5ooo I E Vit.A, 5oo IE Vit.D_3, 5o mg Vit.E, 1 mg Vit.K_3, 2o mg Vit.C, 2o mg Vit.B_1 • HCl, 2o mg Vit.B_2, 1o mg Vit.B_6.HCL, 5o mg Ca-Pantothenat, 5o mg Nikotinsäure, 2ooo mg Cholinchlorid, 2 mg Folsäure, 1oo mg Inosit, 1oo mg p-Aminobenzoesäure, 3o mcg Vit.B_{12}, 2oo mcg Biotin

beider Chargen hergestellt. Die im Folgenden beschriebenen Daten basieren immer auf Untersuchungen an dieser Mischung (Tierversuche) bzw. stellen Mittelwerte von Einzelbestimmungen (Analysenergebnisse) dar. Für die Analysen auf den Gehalt an Gesamtstickstoff und Aminosäuren im Kot wurden die Faeces von je 2 Tieren vereinigt, so daß für jede Erhitzungscharge ein Doppelwert erhalten wurde. Die in Tabelle 4 aufgezeigten Relativwerte beziehen sich auf schonend hitzebehandeltes Sojaprotein (95° C). Unbehandeltes Sojaprotein wurde deshalb nicht als Kontrolle gewählt, weil in ihm noch hitzelabile Trypsininhibitoren enthalten sein können, die einen zusätzlich beeinflußenden Faktor der Verdaulichkeit darstellen würden (s. hierzu auch 1oo).

Durch die Hitzebehandlung auf 138° - 146° C wurde, verglichen mit dem schonend behandelten Muster, die Verdaulichkeit des Rohproteins um (9 %) vermindert. Bei den Aminosäuren waren vor allem Lysin (18 %) und Threonin (12 %) betroffen. Durch die Erhitzung auf 16o° C wurde die Verdaulichkeit wesentlich stärker beeinträchtigt. Die beiden Werte für die Rohproteinverdaulichkeit lagen nur noch bei 1o bzw. 23 %. Auch bei den einzelnen Aminosäuren lag die Verdaulichkeit in vergleichbarer Höhe, wobei die Aminosäuren Lysin, Methionin, Threonin, Serin und Cystin am stärksten betroffen waren. Bemerkenswert war auch die große Differenz zwischen den beiden Gruppen. Da beiallen Tieren kein Durchfall zu verzeichnen war, dürfte diese große Schwankung auf ein unterschiedliches Verdauungsvermögen oder auf Unterschiede in der Aktivität der Mikroorganismen im Verdauungstrakt (s. später) zurückzuführen sein.

Tab. 3 Der Gehalt an Rohprotein und an Aminosäuren (g/16 g N) in verschieden hoch erhitztem Sojaprotein +

- Versuch I -

	I Sojaprotein bei 95° erhitzt	II Sojaprotein bei 138° u. 146° erh.	II relativ (I=1oo)	III Sojaprotein bei 16o° erhitzt	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein	92,8	92,4	(1oo)	92,5	(1oo)
Aminosäuren (g/16 g N)					
Methionin	1,o	1,1	(111)	1,o	(1oo)
Lysin	6,3	5,8	(92)	5,3	(84)
Threonin	4,2	4,1	(98)	3,5	(83)
Valin	5,o	5,2	(1o4)	5,o	(1oo)
Isoleucin	5,1	5,1	(1oo)	4,9	(96)
Leucin	8,o	8,1	(1o1)	7,9	(99)
Phenylalanin	5,9	5,8	(98)	5,6	(95)
Tyrosin	4,1	4,o	(98)	3,9	(95)
Arginin	8,2	8,3	(1o1)	7,9	(96)
Histidin	2,6	2,6	(1oo)	2,4	(92)
Asparagins.	12,4	13,o	(1o5)	12,8	(1o3)
Glutamins.	22,1	22,8	(1o3)	22,7	(1o3)
Serin	5,6	5,7	(1o2)	5,o	(89)
Prolin	5,2	5,o	(96)	4,9	(94)
Glycin	4,6	4,8	(1o4)	4,7	(1o2)
Alanin	4,4	4,7	(1o7)	4,8	(1o9)
Cystin	1,2	1,2	(1oo)	1,1	(92)

+ Isoliertes Sojaprotein (nach Säurefällung, Waschung und schonender Trocknung) mit 96% Rohprotein, 1,4% Asche, o,3% Fett, o,2% Rohfaser und 2% N- freie Extraktstoffe (überwiegend nicht reduzierende Kohlenhydrate)in der Trockensubstanz. Freie Säure max. o,1%.

Tab. 4 Auswirkung der Hitzebehandlung von Sojaprotein auf die Verdaulichkeit des Proteins und auf den Gehalt an verdaulichen Aminosäuren (g/16g N) - Versuch I -

Versuchstiere	I Sojaprotein bei 95° erhitzt ++ 1+2/3+4	II Sojaprotein bei 138 u. 146° erhitzt 5+6/7+8	II relativ (I=1oo)	III Sojaprotein bei 16o° erhitzt 9+1o/11+12	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein= verdaulichkeit +	9o/91	83/82	(92)/(9o)	23/1o	(26)/(11)
% Trockensubst.= verdaulichkeit +	89/9o	86/87	(97)/(97)	75/72	(84)/(8o)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	o,9/o,9	o,9/o,9	(1oo)/(1oo)	o,2/o,o	(22)/(o)
Lysin	5,9/5,8	4,8/4,8	(81)/(83)	1,2/o,3	(2o)/(5)
Threonin	3,8/3,8	3,4/3,3	(9o)/(87)	o,6/o,o	(16)/(o)
Valin	4,5/4,5	4,4/4,4	(98)/(98)	1,5/1,6	(33)/(36)
Isoleucin	4,8/4,7	4,4/4,4	(92)/(94)	1,4/o,7	(29)/(15)
Leucin	7,4/7,5	7,1/7,o	(96)/(93)	2,1/o,7	(28)/(9)
Phenylalanin	5,6/5,6	5,2/5,2	(93)/(93)	2,1/1,o	(38)/(18)
Tyrosin	3,8/3,8	3,5/3,4	(92)/(9o)	1,4/o,7	(37)/(19)
Arginin	7,7/7,8	7,5/7,7	(97)/(99)	3,3/1,6	(43)/(21)
Histidin	2,4/2,5	2,3/2,3	(96)/(92)	o,8/o,4	(33)/(16)
Asparagins.	11,8/11,5	11,1/1o,9	(94)/(95)	3,2/2,1	(27)/(18)
Glutamins.	21,2/2o,9	21,2/2o,6	(1oo)/(99)	6,7/3,3	(32)/(16)
Serin	5,3/5,2	5,o/4,8	(94)/(92)	o,1/o,7	(2)/(13)
Prolin	4,9/4,9	4,2/4,1	(86)/(84)	o,7/o,o	(14)/(o)
Glycin	4,2/4,2	4,o/4,1	(95)/(98)	1,5/o,7	(36)/(17)
Alanin	4,o/4,o	4,o/3,9	(1oo)/(98)	1,9/o,9	(48)/(23)
Cystin	o,9/1,o	o,9/o,8	(1oo)/(8o)	o,o/o,o	(o)/(o)

\+ Einzelwerte (jeweils 2 Tiere)

++ Die unerhitzte Probe war aufgrund noch vorhandener Reste an Trypsininhibitoren (s. auch 1oo) als Kontrollprotein ungeeignet.

b. Casein allein und zusammen mit Glukose bei 138° C autoklaviert

- Versuch II -

In diesem Versuch sollte untersucht werden, ob durch eine Erhitzung von Casein, das allein bzw. mit Glukose hitzebehandelt worden war, die Verdaulichkeit einzelner Aminosäuren verändert wird. Dazu wurde Casein allein und mit einem Zusatz von 1o % Glukose 3o Minuten bei 138° C autoklaviert. (Der Wassergehalt der Mischung betrug 15 %). Die so hitzebehandelten Chargen wurden auf ihre Aminosäurenzusammensetzung untersucht; das Ergebnis zeigt Tabelle 5. Deutliche Veränderungen im Aminosäurengehalt der Proben ließen sich lediglich bei den beiden basischen Aminosäuren Lysin und Arginin erkennen. Die Erhitzung von Casein allein führte zu einer Verminderung des Lysingehaltes um 12 %. Dieser Verlust erhöhte sich durch die Anwesenheit von Glukose auf 33 %. Unter der letztgenannten Bedingung war auch der Argininingehalt um 34 % herabgesetzt.

Für die Versuche zur Bestimmung der Verdaulichkeit wurden weibliche Albino-Ratten mit einem Gewicht von ca. 25o g ausgewählt. Tabelle 2 zeigt die Zusammensetzung des in diesem Bilanzversuch verabreichten Futters. Die Ergebnisse des Verdaulichkeitsversuches sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

Wenn man die Verdaulichkeitswerte bei dem autoklavierten Casein (138° C) mit den Daten für das unerhitzte Casein vergleicht (= 1oo), so war vor allem die Verdaulichkeit von Serin (79 %) und Lysin (83 %) herabgesetzt, während die Rohproteinverdaulichkeit nicht beeinträchtigt war. Bei dem unter den gleichen Bedingungen zusammen mit Glukose autoklavierten Casein war die Verdaulichkeit fast aller Aminosäuren vermindert. Besonders niedrig lagen die Relativwerte (unerhitzt = 1oo) für die basischen Aminosäuren Lysin (44 %), Arginin (53 %), Histidin (75 %) sowie für Serin (66 %) und Threonin (78 %). Der Relativwert für die Verdaulichkeit des Rohproteins lag dagegen bei 88 %.

Tab. 5 Der Gehalt an Rohprotein und an Aminosäuren ++ (g/16 g N) in einem hitzebehandelten Casein und in einem autoklavierten Casein-Glukosegemisch

- Versuch II -

	I Casein unerhitzt	II Casein autokl.+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. Glukose autokl.+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein	74,8	75,7	(1o1)	72,2	(97)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	3,1	3,3	(1o6)	3,2	(1o3)
Lysin	8,8	7,7	(88)	5,9	(67)
Threonin	5,3	5,3	(1oo)	5,o	(94)
Valin	7,8	7,8	(1oo)	8,o	(1o3)
Isoleucin	5,8	5,8	(1oo)	6,o	(1o3)
Leucin	9,6	1o,o	(1o4)	1o,1	(1o5)
Phenylalanin	5,7	5,6	(98)	5,7	(1oo)
Tyrosin	6,o	6,4	(1o7)	6,o	(1oo)
Arginin	4,1	4,3	(1o5)	2,7	(66)
Histidin	3,4	3,6	(1o6)	3,3	(97)
Asparagins.	8,1	8,o	(99)	8,2	(1o1)
Glutamins.	22,o	2o,6	(94)	22,o	(1oo)
Serin	7,o	7,1	(1o1)	6,8	(97)
Prolin	1o,o	1o,4	(1o4)	1o,o	(1oo)
Glycin	2,1	2,1	(1oo)	2,2	(1o5)
Alanin	3,5	3,6	(1o3)	3,5	(1oo)

+ 3o Minuten bei 138° C

++ Säurecasein (nach Salzsäurefällung, Waschung und Trocknung bei max. 7o° C) mit 96% Rohprotein, 2% Asche, 1,2% Fett und o,6% Kohlenhydrate (überwiegend Laktose) in der Trockensubstanz. Freie Säure max. o,2%.

Tab. 6 Gehalt an verdaulichem Protein und verdaulichen Aminosäuren (g/16g N) in Casein, Casein erhitzt und in einem hitzebehandelten Modellgemisch aus Casein und Glukose

- Versuch II -

	I Casein unerhitzt	II Casein autokl.+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. Glukose autokl.+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein-verdaulichkeit++	91,6^{a} ± o,72	91,9^{a} ± o,65	(1oo)	8o,9^{b} ± o,77	(88)
% Trocken-substanz-verdaulichkeit++	89,6^{a} ± o,53	9o,2^{a} ± o,47	(1oo)	86,4^{b} ± o,6o	(96)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	2,9	3,o	(1o3)	2,9	(1oo)
Lysin	8,1	6,7	(83)	3,6	(44)
Threonin	4,6	4,5	(98)	3,6	(78)
Valin	6,6	6,8	(1o3)	6,2	(94)
Isoleucin	4,7	4,8	(1o2)	4,o	(85)
Leucin	8,8	9,3	(1o6)	8,6	(98)
Phenylalanin	5,4	5,2	(96)	5,o	(93)
Tyrosin	5,6	6,o	(1o7)	5,2	(93)
Arginin	3,6	3,7	(1o3)	1,9	(53)
Histidin	3,2	3,3	(1o3)	2,4	(75)
Asparagins.	6,8	6,5	(96)	5,2	(77)
Glutamins.	17,7	17,1	(97)	15,3	(87)
Serin	6,8	5,4	(79)	4,5	(66)
Prolin	9,3	9,7	(1o4)	8,o	(86)
Glycin	1,5	1,5	(1oo)	1,3	(87)
Alanin	2,9	2,9	(1oo)	2,4	(83)

\+ 3o Minuten bei 138°C

++ Mittelwert und Streuung aus vier Einzelwerten (zu je 2 Ratten). Werte mit verschiedenen Buchstaben sind gesichert ($p < o,oo1$) (83)

c. Autoklavierung von Casein allein und zusammen mit Fett bzw. oxidiertem Fett bei 138° C

- Versuch III -

In Versuch III sollte festgestellt werden, ob Autoklavierung von Proteinen zusammen mit oxidiertem Öl verglichen mit einer Hitzebehandlung in Gegenwart von nicht oxidiertem Öl Unterschiede in der Rohprotein- und Aminosäurenverdaulichkeit ergibt. Für die Herstellung des oxidierten Fettes wurden 3oo ml Sojaöl intensiv bei Temperaturen um 15o° C durchgerührt (Magnetrührer) und gleichzeitig mittels einer UV-Lampe bestrahlt. Das so behandelte Sojaöl wies eine Peroxidzahl von 88 und eine Aldehydzahl von 11 auf (s. hierzu 1oo). Anschließend wurde eine aus 6o g dieses oxidierten Sojaöls mit 6o ml Wasser und 6oo g Casein bestehende Modellmischung unter Stickstoff in mehrere, ca. 45o mm^3 fassende Patentverschlußdosen abgefüllt (s. hierzu auch 1oo).
Daraufhin wurden die Dosen verschlossen und 1 Stunde bei 138° C in einem Hochdruckdampfsterilisator erhitzt. Das Gemisch aus Casein mit dem nicht oxidierten Sojaöl sowie das Casein ohne Ölzusatz wurden in gleicher Weise behandelt. Nach der Hitzebehandlung wurden die Proben fein gemahlen, bei Zimmertemperatur getrocknet und nach dem Soxlethverfahren extrahiert.

Hinsichtlich des Aminosäurengehaltes konnten keine Unterschiede zwischen den 3 Proben festgestellt werden (s. Tab. 7). Die Bestimmung des verdaulichen Rohproteins und der Aminosäuren erfolgte wie in den vorausgegangenen Versuchen (Futterzusammensetzung s. Tabelle 2). Hierbei wurden für Casein allein erhitzt und für Casein zusammen mit oxidiertem und nicht oxidiertem Sojaöl unter den genannten Bedingungen autoklaviert in etwa gleiche Werte für die Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren erhalten (s. Tabelle 8).

Tab. 7 Der Gehalt an Rohprotein und an Aminosäuren (g/16g N) in einem hitzebehandelten Casein und in hitzebehandelten Mischungen aus Casein mit Fett bzw. Casein mit oxidiertem Fett

- Versuch III -

	I Casein autokl.+	II Casein u. Fett autokl.+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. oxidiertes Fett autokl.+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein	82,4	82,5	(1oo)	82,9	(1oo)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	3,o	3,1	(1o3)	3,1	(1o3)
Lysin	9,4	9,2	(98)	9,2	(98)
Threonin	5,3	5,4	(1o2)	5,2	(98)
Valin	7,6	7,5	(99)	7,7	(1o1)
Isoleucin	5,7	5,8	(1o2)	5,7	(1oo)
Leucin	1o,o	1o,o	(1oo)	9,9	(99)
Phenylalanin	5,6	5,6	(1oo)	5,7	(1o2)
Tyrosin	6,3	6,4	(1o2)	6,5	(1o3)
Arginin	4,4	4,5	(1o2)	4,4	(1oo)
Histidin	3,4	3,4	(1oo)	3,4	(1oo)
Asparagins.	8,2	8,3	(1o1)	8,1	(99)
Glutamins.	26,5	26,9	(1o1)	26,8	(1o1)
Serin	7,o	7,1	(1o1)	6,9	(99)
Prolin	12,9	12,3	(95)	12,8	(99)
Glycin	2,2	2,4	(1o9)	2,2	(1oo)
Alanin	3,6	3,8	(1o5)	3,6	(1oo)

+ 6o Minuten bei 138° C

Tab. 8 Gehalt an verdaulichem Protein und verdaulichen Aminosäuren (g/16g N) in hitzebehandelten Modellgemischen aus Casein und Fett sowie Casein und oxidiertem Fett

- Versuch III -

	I Casein autokl.+	II Casein u. Fett autokl.+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. oxidiertes Fett autokl.+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein-verdaulichkeit++	86/87	87/88	(1o1/1o1)	89/88	(1o3/1o1)
% Trockensubstanz-verdaulichkeit++	89/89	89/9o	(1oo/1o1)	9o/89	(1o1/1oo)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	2,8	2,9	(1o3)	2,9	(1o3)
Lysin	8,7	8,5	(98)	8,6	(99)
Threonin	4,6	4,7	(1o2)	4,6	(1oo)
Valin	6,8	6,7	(99)	7,o	(1o3)
Isoleucin	4,9	5,o	(1o2)	5,o	(1o2)
Leucin	9,4	9,3	(99)	9,4	(1oo)
Phenylalanin	5,3	5,3	(1oo)	5,4	(1o2)
Tyrosin	5,8	6,o	(1o3)	6,2	(1o7)
Arginin	4,o	4,1	(1o3)	4,o	(1oo)
Histidin	3,2	3,1	(97)	3,2	(1oo)
Asparagins.	6,9	7,1	(1o3)	6,8	(99)
Glutamins.	23,9	24,4	(1o2)	24,2	(1o1)
Serin	5,5	5,7	(1o4)	5,6	(1o2)
Prolin	12,4	11,8	(95)	12,4	(1oo)
Glycin	1,6	1,8	(113)	1,7	(1o6)
Alanin	2,9	3,2	(111)	3,o	(1o3)

+ 6o Minuten bei 138° C

++ Einzelwerte (jeweils 2 Tiere)

d. Erhitzung von Casein allein und zusammen mit Fett bei 11o° C

- Versuch IV -

In diesem Versuch wurde der Einfluß einer Erhitzung von Casein in Gegenwart von Fett auf die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren untersucht. Dazu wurden 3 kg Säurecasein mit 3 l Wasser vermischt und in ca. 3 cm dicker Schicht 24 Stunden bei 11o° C im Luftstrom erhitzt und schließlich weitere 24 Stunden bei 6o° C getrocknet. Anschließend wurde die Probe fein gemahlen. Ein Gemisch aus Casein mit 1o % Sojaöl und dem entsprechenden Wasserzusatz wurde ebenso behandelt. Diese Charge wurde danach mit Diäthyläther nach dem Soxleth-Verfahren extrahiert. Von diesen allein und zusammen mit Fett hitzebehandelten Chargen wurde in der auf Seite 12 beschriebenen Art und Weise die scheinbare Verdaulichkeit bestimmt. Die Zusammensetzung der Futtermischung geht wiederum aus Tabelle 2 hervor.
Wie aus Tabelle 9 zu ersehen ist, traten hinsichtlich des Aminosäurengehaltes keine nennenswerten Unterschiede auf. Ein Anstieg der Peroxidzahl von o auf 2o8 bzw. der Aldehydzahl von o auf 25 weist auf die oxidativen Veränderungen im Sojaöl während des Erhitzungsprozesses hin (1oo). Die erhaltenen Relativwerte für die Verdaulichkeit (s. Tabelle 1o) beziehen sich jeweils auf das unerhitzt gebliebene Casein. Aus diesen Werten läßt sich kein deutlicher Unterschied in der Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit zwischen unerhitztem, allein oder zusammen mit Fett hitzebehandeltem Casein erkennen.

Tab. 9 Der Gehalt an Rohprotein und an Aminosäuren (g/16g N) in Casein, einem hitzebehandelten Casein und in einer hitzebehandelten Mischung aus Casein mit Sojaöl

- Versuch IV -

	I Casein unerhitzt	II Casein erhitzt+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. Fett erh.+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein	83,8	86,7	(1o3)	84,6	(1o1)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	3,3	3,2	(97)	3,2	(97)
Lysin	9,3	9,1	(98)	9,3	(1oo)
Threonin	5,4	5,2	(96)	5,4	(1oo)
Valin	8,2	8,3	(1o1)	8,2	(1oo)
Isoleucin	5,9	6,o	(1o1)	6,1	(1o3)
Leucin	1o,9	1o,4	(96)	1o,4	(96)
Phenylalanin	6,2	6,2	(1oo)	6,1	(98)
Tyrosin	6,4	6,7	(1o5)	6,4	(1oo)
Arginin	4,4	4,3	(98)	4,4	(1oo)
Histidin	3,5	3,5	(1oo)	3,5	(1oo)
Asparagins.	7,9	8,1	(1o3)	8,o	(1o1)
Glutamins.	26,8	27,8	(1o4)	26,8	(1oo)
Serin	7,1	6,9	(97)	6,9	(97)
Prolin	11,5	12,6	(1o9)	11,6	(1o1)
Glycin	2,3	2,2	(96)	2,2	(96)
Alanin	3,6	3,5	(97)	3,4	(94)

+ 24 Stunden bei 11o° C

Tab. 1o Gehalt an verdaulichem Protein und verdaulichen Aminosäuren (g/16g N) in Casein, Casein erhitzt und in einem hitzebehandelten Modellgemisch aus Casein und Fett

- Versuch IV -

	I Casein unerhitzt	II Casein erhitzt+	II relativ (I=1oo)	III Casein u. Fett erhitzt+	III relativ (I=1oo)
% Rohprotein-verdaulichkeit++	91/91	91/91	(1oo/1oo)	91/9o	(1oo/ 99)
% Trocken-substanz-verdaulichkeit++	88/88	89/88	(1o1/1oo)	88/88	(1oo/1oo)
Aminosäuren (g/16g N)					
Methionin	3,2	3,1	(97)	3,o	(94)
Lysin	8,9	8,6	(97)	8,8	(99)
Threonin	5,o	4,7	(94)	4,9	(98)
Valin	7,6	7,7	(1o1)	7,6	(1oo)
Isoleucin	5,1	5,2	(1o2)	5,3	(1o4)
Leucin	1o,5	9,9	(94)	9,9	(94)
Phenylalanin	6,o	6,o	(1oo)	5,9	(98)
Tyrosin	6,2	6,5	(1o5)	6,2	(1oo)
Arginin	4,2	4,o	(95)	4,1	(98)
Histidin	3,4	3,3	(97)	3,4	(1oo)
Asparagins.	7,1	7,3	(1o3)	6,8	(96)
Glutamins.	24,3	25,2	(1o4)	24,6	(1o1)
Serin	5,7	5,4	(95)	5,2	(91)
Prolin	11,3	12,1	(1o7)	11,2	(99)
Glycin	2,o	1,9	(95)	1,9	(95)
Alanin	3,2	3,o	(94)	3,1	(97)

\+ 24 Stunden bei 11o° C

++ Einzelwerte (jeweils 2 Tiere)

2. Biologische Wertigkeit und wahre Verdaulichkeit von hitzebehandelten Modellgemischen aus Casein mit Glukose

In einem weiteren Versuch sollte durch Bestimmung der Biologischen Wertigkeit festgestellt werden, inwieweit bei den hitzegeschädigten Proteinen aus Versuch II (Casein unerhitzt, Casein bei 138° C autoklaviert, Casein mit Glukose bei 138° C autoklaviert) der Anteil an absorbiertem Protein im Körper retiniert wird. Darüber hinaus wurde ein weiteres stark hitzegeschädigtes Protein (Casein und Glukose erhitzt) untersucht, das in folgender Weise hergestellt worden war: 1o kg Casein wurden mit 2 kg Glukose und 25 l Wasser vermischt und in einer etwa 3 cm dünnen Schicht im Luftstrom bei 1oo - 1o5° C getrocknet (Dauer ca. 24 Stunden). Nach der Trocknung war dieses Modellgemisch eine zusammengebackene, glasig-spröde Masse, die nach dem Mahlen ein dunkelbraunes Pulver von aromatischem Geruch und leicht bitterem Geschmack ergab. Die vier erwähnten Testproteine wurden im Hauptversuch (Versuchsablauf s. S. 15) entsprechend einem Rohproteinbeitrag von 1o % der Gesamtration (Futterzusammensetzung s. Tabelle 2) zugemischt. Jede Versuchsgruppe bestand aus 6 Tieren, bei denen einzeln N-Aufnahme sowie N-Ausscheidung über Harn und Kot untersucht wurden. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 11 und Tabelle 12 zusammengestellt.

Wie aus Tabelle 11 und 12 zu ersehen ist, wurde die wahre Verdaulichkeit des Proteins lediglich durch die Hitzebehandlung des Caseins in Anwesenheit von Glukose deutlich vermindert. Dabei waren offensichtlich die Schädigungen durch die Erhitzung desCaseins bei 1o5° C im Luftstrom gravierender als durch das 3o-minütige Autoklavieren bei 138° C. Bei der Biologischen Wertigkeit zeigte sich eine ähnliche, aber wesentlich deutlichere Abstufung. Bei identischen Werten für die wahre Verdaulichkeit war die im Harn ausgeschiedene Stickstoffmenge nach Verabreichung des autoklavierten Caseins auffallend höher als bei Fütterung des unerhitzten Caseins. Eine zusätzliche Steigerung der Stickstoffausscheidung über

Tab. 11 Wahre Verdaulichkeit, Biologische Wertigkeit (BW) und Net Protein Utilization (NPU) von Casein, erhitztem Casein und hitzebehandelten Mischungen aus Casein mit Glukose

	mittl. Gewicht d.Tieres in g	mg N Aufnahme	mg N im Kot	mg N im Kot aus d. Futter	mg N absor= biert	% wahre Verdau= lichkeit	mg N im Harn	mg N im Harn aus d. Futter	mg N retiniert	BW	NPU
Casein unerhitzt	9o	927	91	39	889	96	245	158	731	82	78,7
	94	976	84	3o	936	96	238	15o	786	84	8o,6
	93	94o	91	36	9o5	96	152	75	829	92	88,3
	91	1oo8	1o9	4o	968	96	21o	122	846	87	83,5
	86	882	1o7	52	831	94	224	147	683	82	77,1
	86	927	98	44	873	94	236	159	715	82	77,1
Casein autokl. (3o Min. bei 138°C)	87	944	1oo	45	899	95	228	162	737	82	77,9
	89	942	93	45	897	95	28o	214	683	76	76,o
	86	786	6o	14	772	98	25o	183	589	76	74,5
	88	837	74	25	812	97	263	188	624	77	74,7
	87	888	75	22	866	98	28o	2o7	66o	76	74,5
	87	8o6	91	44	763	95	256	184	579	75	71,2
Casein u. Glukose autokl. (3o Min. bei 138°C)	99	821	145	99	724	88	331	235	489	68	59,8
	116	861	144	93	774	89	382	265	51o	66	58,7
	113	851	186	132	718	84	31o	219	499	7o	56,3
	11o	969	264	195	774	8o	352	257	517	67	53,6
	112	1152	238	166	986	86	394	3o4	681	69	59,3
	1o3	918	182	124	794	87	371	288	5o6	64	55,7
Casein u. Glukose erhitzt (24 h bei 1o5°C)	99	73o	257	212	518	71	297	235	283	55	39,1
	94	684	231	198	488	71	266	2oo	29o	59	41,9
	1o2	93o	296	14o	78o	84	319	243	537	69	58,o
	97	724	217	168	557	77	268	189	367	66	5o,8
	91	778	249	2o2	576	74	3o8	235	331	57	48,2
	1o2	987	352	289	698	71	326	247	45o	65	46,2

Tab. 12 Mittelwerte mit Standardabweichung der in Tabelle 11 aufgeführten Einzelwerte für die wahre Verdaulichkeit, Biologische Wertigkeit und Net Protein Utilization (NPU)

	Anzahl der Tiere	wahre Verdaulichkeit	Biologische Wertigkeit	Net Protein Utilization
Casein unbehandelt	6	[95,3±1,0	84,8±4,0	80,9±4,4
Casein autokl. (30 Min. bei 138° C)	6	96,3±1,5 (101)]	77,0±2,5 (91)+	74,8±2,2 (93)+
Casein und Glukose autokl. (30 Min. bei 138° C)	6	85,7±3,3 (90)+	[67,3±2,2 (79)+	57,2±2,4 (71)+
Casein und Glukose bei 105° erhitzt	6	74,7±5,2 (79)+	61,8±5,6 (73)+]	46,3±7,0 (57)+

+ Relativwerte Casein unbehandelt = 100
Alle Werte $p < 0,05$ (83)
Werte in [ ] sind nicht gesichert

++ Die entsprechenden Werte sind mit $p < 0,1$ gesichert

den Harn war bei den beiden Versuchsgruppen, die das zusammen mit Glukose erhitzte Casein erhalten hatten, festzustellen. Insgesamt ergibt sich hieraus eine Abnahme der Biologischen Wertigkeit in folgender Reihenfolge: Casein unbehandelt, Casein autoklaviert, Casein zusammen mit Glukose autoklaviert (3o Minuten bei 138° C) sowie Casein im Luftstrom erhitzt (24 Stunden bei 1o5° C).

3. Untersuchungen zum Abbau von Fruktoselysin durch die Darmflora

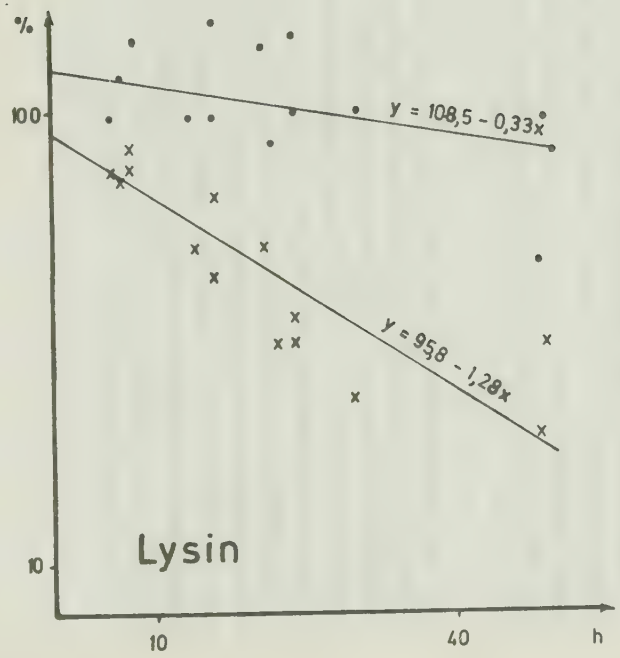
Im Inhalt desEnddarms von Ratten waren nach Fütterung von hitzegeschädigten Proteinen wesentlich geringere Mengen an Fruktoselysin nachzuweisen, als dies dem Gehalt im Futter nach erwartet werden mußte (21). Die Resorption des Fruktoselysins scheint, da sie sehr langsam verläuft, allein keine befriedigende Erklärung hierfür zu sein (26). Zur Klärung der Frage, ob diese Verminderung des Fruktoselysins durch eine mikrobielle Spaltung im Verdauungstrakt zustande kommt, wurden in vitro Versuche mit Dickdarminhalt von Ratten durchgeführt.
Das fruktoselysinreiche Testprotein wurde aus einem hitzegeschädigten Magermilchpulver gewonnen (Einzelheiten s. S. 18).

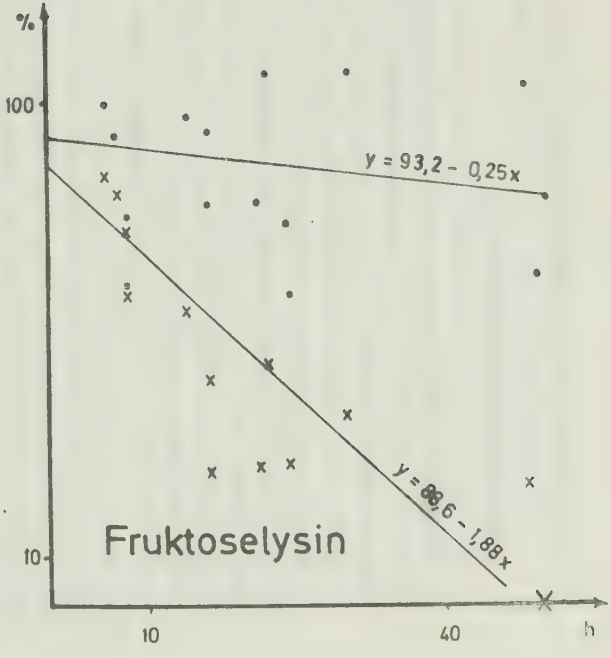
In insgesamt vier Versuchen wurde jeweils Darminhalt von entsprechend adaptierten Ratten+ mit 2 g des fruktoselysinhaltigen Proteins in der bereits beschriebenen Art und Weise+ inkubiert. Als Kontrolle dienten Ansätze, bei denen die Mikroorganismen durch Zugabe von Sublimat abgetötet worden waren+. Nach verschiedenen Inkubationszeiten wurden Teilproben entnommen und nach salzsaurer Hydrolyse auf den Gehalt an basischen Aminosäuren sowie an Furosin untersucht. Aus Abb. 3 sind die entsprechenden Ergebnisse ersichtlich. Wie man daraus ersehen kann, wurde das Lysin - ebenso wie die anderen Aminosäuren - aber auch das Fruktoselysin rasch durch die Mikroorganismen aus dem Verdauungskanal abgebaut. Bei den mit Sublimat behandelten Ansätzen war kein gravierender Abfall an Aminosäuren und an Fruktoselysin zu erkennen.

+ Einzelheiten s. S. 19

Abb.3 Mikrobieller Abbau von Lysin und Fruktoselysin.

Bebrütung mit Darminhalt + $HgCl_2$ • • •
Bebrütung mit Darminhalt x x x x





III. Diskussion und Schlußfolgerungen

1. Untersuchungsverfahren

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Beurteilung der Qualität unterschiedlich hitzebehandelter Proteine vorwiegend die Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit (Rohprotein und Aminosäuren) herangezogen. Bei der Ermittlung der scheinbaren Verdaulichkeit bleibt allerdings die endogene Stickstoffausscheidung über den Kot, die aus nicht wieder resorbierten Darmsekreten, Bakterienzellmasse und Schleimhautabschilferungen (85) besteht, unberücksichtigt. Nach WIESEMÜLLER und POPPE (98) ist der Einfluß des Stoffwechselstickstoffs auf die Verdaulichkeit um so größer, je niedriger der Proteingehalt der Futterration liegt. Bei den eigenen Untersuchungen wurde daher zumeist ein Proteingehalt der Rationen von 2o % gewählt. Weiterhin erhielten alle Versuchstiere täglich die gleiche Proteinmenge (s. S.13) aus den einzelnen hitzebehandelten Proben sowie von dem unerhitzten Kontrollmuster. Die erhaltenen Daten für die scheinbare Verdaulichkeit konnten daher immer auf die gleichzeitig erhaltenen Werte für das nicht hitzebehandelte Kontrollprotein bezogen werden, so daß eine brauchbare relative Qualitätsabstufung möglich war.

Bei den in Versuch I, II und IV eingesetzten Modellproteinen wurde von DÜMMER (17) bzw. WEBER (1oo) mittels der Pfortadertechnik die relative Verfügbarkeit der einzelnen Aminosäuren ermittelt. Diese Untersuchungsmethode basiert auf der Voraussetzung, daß der überwiegende Teil des Nahrungsproteins nach der Verdauung und Resorption in Form freier Aminosäuren über die Pfortader und Leber in den peripheren Kreislauf gelangt. Es können daher die im Pfortaderplasma gefundenen Aminosäuren als für das Tier verfügbar angesehen werden.

Ein Vergleich dieser Befunde mit den eigenen Ergebnissen zeigt, daß die Werte für die relative Verfügbarkeit (Pfortadertechnik) bei allen Aminosäuren niedriger liegen als die Relativwerte für die scheinbare Verdaulichkeit der Aminosäuren (unerhitzt=1oo). Die Ursache hierfür dürfte vor allem in der Umsetzung unverdaulicher Proteine durch die Mikroorganismen in Caecum und Colon liegen. Ein Abbau unverdaulicherProteine durch die Darmflora wurde bereits von CAROLL et al(9) sowie BARNES und KWONG (3) beschrieben. Untersuchungen mit keimfrei und konventionell gehaltenen Küken, die ^{14}C markierte, unerhitzte bzw. hitzebehandelte Proteine erhalten hatten (84), sowie Verdaulichkeitsversuche an caecektiomierten Küken (62, 69) bestätigen ebenfalls diese Befunde (s. hierzu auch 24, 3o, 31, 97).

Mit Hilfe der Bestimmung der Biologischen Wertigkeit sollte untersucht werden, inwieweit die Anteile an verdaulichem Rohprotein bei den hitzebehandelten Proben vom Körper retiniert werden können. Wie bereits auf S.18 beschrieben, können gleichzeitig mit der Biologischen Wertigkeit auch die wahre Verdaulichkeit und die Net Protein Utilization (NPU) errechnet werden. Da somit bei einigen Chargen sowohl die scheinbare Verdaulichkeit als auch die wahre Verdaulichkeit bestimmt wurde, ist ein Vergleich beider Methoden möglich. Für die wahre Verdaulichkeit des Rohproteins wurden in allen Fällen höhere Werte festgestellt, als für die scheinbare Verdaulichkeit. Dies ist verständlich, da ja bei der Berechnung der scheinbaren Verdaulichkeit der endogene, im Kot ausgeschiedene Stickstoff, dem aus dem Futter stammenden, unverdaulichen Stickstoffanteil zugeschlagen wird (vergleiche Formel S.15 und S. 18). Wenn man dagegen in beiden Fällen die Werte für das unbehandelte Protein gleich 1oo setzt, dann stimmen die Relativwerte aus beiden Untersuchungen sehr gut überein. Man darf daraus schließen, daß auch die scheinbare Verdaulichkeit brauchbare Relativwerte erbringt. Dies war insofern von Bedeutung, als durch die Bestimmung und Einbeziehung des sogenannten Darmverlust-

Stickstoffes zur Berechnung der wahren Verdaulichkeit das Untersuchungsverfahren komplizierter und aufwendiger wird. Außerdem treten hierdurch zusätzliche Fehlermöglichkeiten auf, die auch durch exakte Einhaltung standardisierter Versuchsbedingungen - z. B. Proteingehalt von 1o %, mit Verwendung der gleichen Rationsbestandteile (Ausnahme: das Protein) innerhalb eines Versuches usw. - nicht ganz eliminiert werden können.

Das Verfahren nach MITCHELL beruht ja auf der Annahme, daß der Stickstoffverlust bei Verabreichung eines N-freien bzw. geringe Mengen Vollei enthaltenen Futters etwa gleich groß ist wie nach Gabe der zu testenden Proteine. Diese Annahme bzw. Voraussetzung wird durch eine Reihe von Befunden in Frage gestellt. So stellte ABDELJLILet al(1) einen erheblichen Anstieg der Chymotrypsin- und Trypsinaktivität nach Verabreichung einer Ration mit 7o % Casein gegenüber einem Futter mit 15 % Casein fest. SNOOK et al (91) fanden in Versuchen mit Vollei und Casein, daß auch die Art des Proteins für eine Aktivitätsänderung der Pankreasenzyme verantwortlich ist. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch ERBERSDBOLER (21) sowie ZUCKER und Mitarbeiter (1o4). Nach VALLE-RIESTRA u. BARNES führte die Fütterung eines zusammen mit Glukose autoklavierten Eialbumins gegenüber einem ohne Glukose, aber unter den gleichen Bedingungen hitzebehandelten Eialbumin, zu einer Verminderung des endogenen Stickstoffs im Kot(95). Weiterhin soll die endogene Stickstoffausscheidung vom Rohfaser- und Trockensubstanzgehalt des Futters sowie von der Menge und Konsistenz des Kotes spürbar beeinflußt werden (4, 33, 35, 98).

Ähnliches gilt übrigens auch für die endogene Stickstoffausscheidung über den Harn, die ebenfalls nicht als konstant angesehen werden kann. Der Stoffwechsel des endogenen Stickstoffs steht in Wechselwirkung zu dem exogen zugeführten Stickstoff. Der Organismus zeigt bei reichlicher Eiweißzufuhr ein höheres Stoffwechselniveau, d. h. daß unter diesen Bedingungen die Umsatzgeschwindigkeit des Körpereiweißes steigt (98). Es ist daher zweifelhaft, ob die Werte für den endogenen Umsatz (Abnutzungsquote) bei stickstofffreier oder N-armer Ernährung auf die Bedingungen einer reichlichen Eiweißzufuhr übertragen werden können.

Auf der anderen Seite erlaubt die Biologische Wertigkeit eine exaktere Beurteilung der Proteinqualität als die Verdaulichkeit. Wie wichtig die Erfassung des im Harn ausgeschiedenen Stickstoffs zur Beurteilung der Proteinqualität ist, geht aus Tabelle 11 hervor. Verglichen mit unerhitztem Casein stieg nach Fütterung von autoklaviertem Casein die Stickstoffausscheidung im Harn deutlich an. Autoklavierung

bzw. Erhitzung von Casein zusammen mit Glukose führte zu einer weiteren Vermehrung der mit dem Harn ausgeschiedenen Stickstoffmenge. Dieser zusätzliche Verlust des bereits resorbierten Stickstoffs wird bei der Berechnung der Biologischen Wertigkeit entsprechend berücksichtigt. Allerdings kann mit Hilfe der Biologischen Wertigkeit lediglich festgestellt werden, daß etwa durch die Hitzebehandlung eine Verminderung der Verwertbarkeit eines Proteins eingetreten ist. Die genaue Ursache dieser Schädigung, d. h. welche Aminosäuren in ihrer Verfügbarkeit reduziert sind, kann hierdurch nicht nachgewiesen werden.

2. Ergebnisse

Bereits bei den auf 138 - 146° C erhitzten Sojaproteinen war die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins sowie verschiedener Aminosäuren verringert. Bei den Aminosäuren waren vor allem Lysin (18 %) und Threonin (12 %) betroffen. Durch die Erhitzung auf 160° C kam es dagegen zu einer unerwartet starken Depression der Verdaulichkeit. Vom Rohprotein waren nur noch 10 % bzw. 23 % verdaulich. Der große Unterschied bei den Doppelwerten dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die erhebliche N-Ausscheidung im Kot sicherlich eine nicht unbeträchtliche Stimulierung des Mikroorganismenwachstums, die allerdings starken individuellen Schwankungen unterliegen kann, darstellt. Auch die Anteile an Stickstoff endogener Herkunft könnten bei einer derart extrem niedrigen Verdaulichkeit größere Unterschiede aufweisen.
Während die nach der Aminosäurenanalyse (Ionenaustauschchromatographie) erhaltenen Werte hierzu in krassem Widerspruch stehen, stimmen die Befunde der übrigen am selben Material durchgeführten biologischen Versuche mit den vorgenannten eigenen Werten gut überein. Die Bestimmung der relativen Aminosäurenverfügbarkeit mit Hilfe der Pfortadermethode und das Ergebnis eines Wachstumsversuchs (100) sowie Untersuchungen zur enzymatischen Hydrolyse der Proben mit verschiedenen Proteasen (68) lassen dieselbe, von der Erhitzungsintensität beeinflußte Abstufung der Proteinqualität erkennen. So lag

die relative Verfügbarkeit der Aminosäuren nach Verabreichung des bei 16o° C erhitzten Sojaproteins gegenüber der unerhitzten Probe zumeist nur noch bei 1o - 3o %. Bei wachsenden Ratten traten nach Fütterung von Rationen, die 1o % dieses stark hitzegeschädigten Proteins enthielten, sogar Gewichtsverluste auf (1oo).
Da das Ausmaß der totalen Aminosäurenzerstörung - nachgewiesen nach der chemischen Aminosäurenanalyse - selbst bei 16o° C noch relativ gering war, muß die Ursache für den Abfall der Aminosäurenverdaulichkeit in einer Aminosäureninaktivierung gesehen werden. Für diese Inaktivierung können die bereits im Literaturteil erwähnten inter- und intramolekularen Bindungen zwischen funktionellen Gruppen einzelner Aminosäuren im Protein verantwortlich gemacht werden. Durch die Bedingungen der salzsauren Hydrolyse werden diese Bindungen wieder gespalten, so daß das Ergebnis der Aminosäurenanalyse bei hitzegeschädigten Proteinen, wie bereits von mehreren Autoren beschrieben (7, 11, 14, 52, 6o), keine exakte Beurteilung der Proteinqualität erlaubt.

In allen Fällen wies das zusammen mit Glukose erhitzte Casein eine geringere Proteinqualität auf, als die ohne Glukose entsprechend hitzebehandelte Charge. Bei dem Casein, das zusammen mit Glukose 3o Minuten bei 138° C autoklaviert worden war, wurde eine Biologische Wertigkeit von 67 festgestellt, während die Zahlen für die Biologische Wertigkeit des ohne Glukose autoklavierten und des unerhitzt gebliebenen Caseins bei 77 bzw. 85 lagen. Bei dem zusammen mit Glukose autoklavierten Casein war außerdem die scheinbare Verdaulichkeit der meisten Aminosäuren, besonders aber von Lysin und Arginin, vermindert. Diese beiden Aminosäuren waren nach dem Ergebnis von DÜMMER (17) am selben Material auch hinsichtlich der relativen Verfügbarkeit (Pfortadertechnik) am stärksten beeinträchtigt. Bei dem im Luftstrom zusammen mit Glukose über 24 Stunden bei 1o5° C erhitzten Casein lag die Biologische Wertigkeit nur noch bei 62. Auch bei diesem Protein war das Lysin in seiner Verdaulichkeit am stärksten

beeinträchtigt, wie aus Untersuchungen von ERBERSDOBLER (21) am selben Material hervorgeht.

Nach Untersuchungen von ERBERSDOBLER et al (26) wurde bei Erhitzung von Casein mit Glukose auf 9o° C lediglich das Lysin in seiner Verfügbarkeit beeinträchtigt. Diese Lysinschädigung kann durch Reaktion dieser Aminosäure mit Glukose in der Maillardumsetzung erklärt werden (37, 38, 39, 43, 47). Für die Aminosäurenschädigung bei höheren Temperaturen (über 1oo° C) können nicht mehr alleine Reaktionen vom Typ der Maillardumsetzung verantwortlich gemacht werden. Die bereits bei alleiniger Erhitzung von Proteinen erwähnte Bildung enzymresistenter Bindungen zwischen freien Amino- und Hydroxylgruppen mit reaktionsfähigen Carboxyl- und Seitengruppen innerhalb des Proteins tritt hier verstärkt auf. Wie die vorliegenden Ergebnisse und die Befunde von DÜMMER (17, 26) deutlich zeigen, kommt es erst bei Temperaturen von über 1oo° C zu einer deutlichen Verringerung der Rohprotein- und Aminosäurenverdaulichkeit. Es ist denkbar, daß Glukose oder Zwischen- und Endprodukte der Maillardreaktion sich auch begünstigend oder beschleunigend auf Schädigung anderer Aminosäuren auswirken. Wurde z. B. Casein mit und ohne Glukose bei 138° C autoklaviert (Versuch II), so waren bei Erhitzung mit Glukose alle untersuchten Aminosäuren weniger verdaulich, als bei Erhitzung ohne Glukose.

Bei den unter Stickstoff autoklavierten Caseinchargen konnten unabhängig von der Anwesenheit und dem Oxidationsgrad des Fettes keine Unterschiede in der scheinbaren Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren festgestellt werden. Untersuchungen zur Verfügbarkeit (Pfortadertechnik) sowie zur enzymatischen Freisetzung (in vitro) an unter ähnlichen Bedingungen hitzebehandelten Proben hatten zu vergleichbaren Ergebnissen geführt (68, 1oo). Auch die Ergebnisse eines weiteren Versuches (Versuch IV), in dem Casein mit Fett unter Luftzutritt erhitzt wurde, ließen keine Unterschiede in der Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren erkennen.

Bei diesem Versuch waren allerdings nach dem Ergebnis anderer Biologischer Tests (Pfortadertechnik (1oo), enzymatische Freisetzung der Aminosäuren in vitro (68)) Unterschiede festgestellt worden. Offensichtlich waren die Verdaulichkeitsversuche für den Nachweis dieser doch geringeren Qualitätsabstufungen zu wenig spezifisch.

Epsilon-Fruktoselysin stellt ein wichtiges Zwischenprodukt bei der Umsetzung von Lysin mit Glukose oder Laktose im Initialstadium der Maillardkondensation dar (s. S. 8). Bisher wurde dieser Lysin-Zucker-Komplex in Form des Folgeproduktes Furosin hauptsächlich zum analytischen Nachweis einer Lysinschädigung bei verschiedenen Milchprodukten sowie bei Modellgemischen aus Casein und Glukose herangezogen. Bei den gleichzeitig durchgeführten Untersuchungen über die ernährungsphysiologische Bedeutung des Fruktoselysins fiel dessen scheinbar hohe Verdaulichkeit auf. Im Rattenkot wurde ein wesentlich geringerer Gehalt an Fruktoselysin nachgewiesen als der täglichen Aufnahme nach zu erwarten war. Die Ursache hierfür hätte eine Resorption, eine Weiterreaktion innerhalb des Verdauungstraktes oder die Spaltung durch die Mikroorganismen im Enddarm sein können. Vermutungen von MAURON (48) weisen zwar darauf hin, daß Fruktoselysin rasch resorbiert und über den Harn wieder ausgeschieden wird. Neuere Ergebnisse von Versuchen mit einem hoch gereinigten, ^{14}C-markierten Fruktoselysin (25) zeigen jedoch, daß die Resorption relativ langsam abläuft und nur durch Diffusion zustande kommt (2). FORD (31) konnte nach Fütterung von hitzegeschädigtem Milchprotein an Ratten nur ca. 3 % der täglich verabreichten Fruktoselysinmenge im Harn finden. Nach bisherigen Befunden spielt auch die Weiterreaktion des Fruktoselysins im Verdauungskanal keine Rolle (2).

Demnach war zu erwarten, daß ein Großteil des Fruktoselysins im Enddarm durch die dort vorhandenen Mikroorganismen abgebaut wird. Die hierbei möglicherweise frei werdenden NH_3-Mengen sind sicherlich zum Teil im Enddarm noch resorbierbar oder dienen den Mikroorganismen zur Synthese von Zellprotein. VALLE-RIESTRA und BARNES (95) wiesen in Bilanzver-

suchen mit Ratten nach, daß die Verdaulichkeit eines mit Glukose erhitzten Eialbumins geringer wurde, wenn man die Koprophagie verhinderte. Bei Eialbumin, das ohne Glukosezusatz erhitzt wurde, waren diese Unterschiede nicht so deutlich. Sehr wahrscheinlich war es auch hier zur Spaltung von Fruktoselysin oder ähnlichen unverdauten Proteinen durch die Darmflora gekommen. Nach in vitro Versuchen mit Darminhalt vom Schwein (24) sowie den eigenen Ergebnissen mit Rattenfaeces sind die Mikroorganismen des Verdauungstraktes tatsächlich befähigt, das für höhere Tiere nicht spaltbare Fruktoselysin abzubauen. Insgesamt werden damit Befunde anderer Autoren, die eine Desaminierung hitzegeschädigter Proteine und anschließende Ammoniakresorption im Enddarm möglich erscheinen lassen (3, 9, 24, 31, 62, 69, 84, 97) an Hand eines gut definierten Produktes, das einen Lysin- Zucker- Komplex darstellt, bestätigt.

Derartige Desaminierungsvorgänge, die auch für Aminosäuren gelten und hier am Beispiel des Lysins nachgewiesen wurden, schränken die Brauchbarkeit von Verdaulichkeitsuntersuchungen bei hitzebehandelten Proteinen ein, da das Ausmaß des Proteinumbaus im Enddarm bzw. die Menge des gebildeten Ammoniaks und dessen Resorption von Fall zu Fall nicht abgeschätzt werden können. Die Ergebnisse der vorliegenden Verdaulichkeitsversuche zeigen jedoch, daß mit Hilfe von Bilanzuntersuchungen zumindest eine brauchbare Qualitätsabstufung möglich ist. Die Ermittlung von Absolutwerten für die Aminosäurenverfügbarkeit dürfte jedoch auf diesem Weg (außer beim keimfrei gehaltenen Versuchstier) nicht gelingen.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Säurecasein bzw. isoliertes Sojaprotein wurde allein oder zusammen mit Fett, oxidiertem Fett bzw. Glukose in Gegenwart von Wasser verschieden hoch erhitzt. Mit diesen hitzebehandelten Modellgemischen wurden Versuche zur Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren durchgeführt. Bei einem Teil der Proben wurden außerdem die wahre Verdaulichkeit, die Biologische Wertigkeit und die Net Protein Utilization (NPU) ermittelt. In allen Fällen wurden die unerhitzten oder schonend hitzebehandelten Proben als Kontrollen in die Untersuchungen einbezogen.

Für die wahre Verdaulichkeit des Rohproteins wurden, wie erwartet, höhere Werte festgestellt als für die scheinbare Verdaulichkeit. Bei den entsprechenden Relativwerten (unbehandeltes Casein=1oo) ergab sich jedoch stets eine sehr gute Übereinstimmung. Mit Hilfe der Biologischen Wertigkeit und der NPU waren die Unterschiede in der Proteinqualität der Testproteine deutlicher zu erkennen. Informationen über die während der Hitzebehandlung eingetretene Aminosäurenschädigung konnten jedoch nur durch die Bestimmung der Verdaulichkeit für die einzelnen Aminosäuren erhalten werden.

Proportional zur Intensität der Hitzebehandlung der Proteine wurden die Werte für die Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit immer geringer. So waren z. B. bei der Mischung zweier, 24 Stunden auf 138° C bzw. 146° C erhitzter Sojaproteine verglichen mit der schonend erhitzten Probe die Rohprotein-, Threonin- und Lysinverdaulichkeit um 9, 12 bzw. 16 % erniedrigt. Durch die Erhitzung auf 16o° C kam es zu einer weiteren, unerwartet hohen Depression der Verdaulichkeit auf nur noch 1o - 3o % der Ausgangswerte. Bei den allein und zusammen mit Fett erhitzten Caseinchargen konnten unabhängig von der Anwesenheit und dem Oxidationsgrad der Fette keine Unterschiede in der scheinbaren Verdaulichkeit des

Rohproteins und der Aminosäuren festgestellt werden. Das zusammen mit Glukose erhitzte Casein wies dagegen deutlich geringere Werte für die scheinbare Verdaulichkeit, wahre Verdaulichkeit, Biologische Wertigkeit und NPU auf, als die ohne Glukosezusatz entsprechend hitzebehandelte Probe. Besonders vermindert war die Verdaulichkeit für das Lysin und Arginin.

In weiteren Versuchen wurde ein hitzegeschädigtes Protein mit einem hohen Gehalt an Fruktoselysin, dem wichtigsten Reaktionsprodukt des Lysins mit Glukose oder Laktose, zusammen mit Inhalt des Enddarms von Ratten bei 37° C unter Stickstoff bis zu 48 Stunden bebrütet. Als Kontrolle dienten Ansätze, die zur Abtötung der Mikroorganismen mit Sublimat versetzt waren. Wie die Versuche ergaben, sind die Mikroorganismen aus dem Verdauungstrakt befähigt, das für höhere Tiere nicht spaltbare Fruktoselysin abzubauen.

SUMMARY

Isolated soybean protein or casein were subjected alone, or together with fat, oxidized fat or glukose, to different conditions of heat treatment.In these heated model-mixtures the appearent digestibility of the proteins and the amino acids were determined. In some of these samples also, the true digestibility, the biological value and the Net Protein Utilization (NPU) were determined. In all experiments the unheated or carefully heated proteins were used as controll.

As could be expected, the results of the true digestibility, of the proteins were higher than those of the appearent digestibility. However, the relative values (unheated casein = 1oo) correlated very well. Using the biological value and the NPU, the differences in the protein quality of the test samples could be distinguished more clearly. Informations regarding the damage to amino acids due to the heat treatment could only be ascertained through determining the digestibility of the individual amino acids.

The decreases in the digestibility of the proteins and amino acids were proportional to the intensity of the heat treatment. After heating soybean protein at 16o° C for 24 hrs the digestibility was reduced to 1o-3o %. The heating of casein with fat or oxidized fat caused no difference in the protein and amino acids digestibility, as compared to the casein that has been heated alone. After heat processing of a mixture of casein and glucose, the appearent and true digestibility were obviously decreased as well as the biological value and the NPU. This was especially true in the case of the low digestibility of lysine and arginine.

In further experiments heat damaged protein with a high content of fructoselysine was incubated with gut contents of rats. The controls have been treated with sublimate before the incubation in order to stop the activity of the microorganisms. The results show that fructoselysine, which is indigestible for animals, is deaminated by the microorganisms present in the intestinal tract of rats.

E LITERATURVERZEICHNIS

1. ABDELJLIL, A., BEN A. M. VISANI, P. DESNUELLE
Adaption of the exocrine secretion of rat pancreas to the composition of the diet. Biochem.Biophys.Res.Commun. 1o, 112 (1963)

2. ALFKE, F. Med. vet. Diss. München (in Vorbereitung)

3. BARNES, R. H., E. KWONG
Methionine absorption and utilization from soybean protein and the effect of soybean trypsin inhibitior - a study of amino acid availability, in: H. N. MUNRO, The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism. Blackwell, Oxford (1964)

4. BIGWOOD,E. J. Questions concerning the adequacy of certain biological indices of either protein quality or of protein value of diets. Voeding, Jahrgang 25, Nr. 3, 185 (1964)

5. BJARNASON, J., K. J. CARPENTER
Mechanisms of heat damage in proteins. 2. Chemical changes in pure proteins. Br. J. Nutr. 24, 313 (197o)

6. BLOCK, R. J., H. H. MITCHELL
The correlation of the amino-acid-composition of proteins with their nutritive value. Nutr. Abstr. Rev. 16, 249 (1946)

7. BRÜGGEMANN, J., H. ERBERSDOBLER
Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäurenschädigung bei Hitzebehandlung von Nahrungs- und Futtermitteln. 1. Mitt. Einleitung und Untersuchung an Modellgemischen Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 24, 55 (1968)

8. BUJARD, E., V. HANDWERCK, J. MAURON
The differential determination of lysine in heated milk. 1. In vitro methods. J. Sci. Fd. Agric. 18, 52 (1967)

9. CAROLL, R. W., G. W. HENSLEY, W. R. GRAHAM Jr.
Science, 115, 36 (1952), zit. n. Nesheim und Carpenter, Br.J.Nutr. 21, 399 (1967)

1o. CARPENTER, H. N., C. B. MORGAN, C. H. LEA, L. J. PARR
Chemical and nutritional changes in stored herring meal.
3. Effect of heating at controlled moisture contents on the binding of amino acids in freezedried herring press cake and related model systems.
Br.J.Nutr. 16, 451 (1962)

11. CLANDININ, D. R.
The effects of methods of processing on the nutritive value of herring meals.
Poult. Sci. 28, 128 (1949)

12. COHNHEIM, O. Zur Spaltung des Nahrungseiweißes im Darm.
Z.Phys. Chem. 49, 64 (19o6)

13. DAMMERS, J. Veteringsstudies bij het varken. Faktoren van invloed op de vertering der voedercomponenten en de verteerbaaheit der aminozuren.
Agr.Diss.Leuven (1964)

14. DAMMERS, J. Das Verhalten der Aminosäuren während der Eiweißverdauung beim Schwein.
Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 22, 64 (1967)

15. DE GROOT, A. P., P. SLUMP
Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value.
J.Nutr. 98, 45 (1969)

16. DONOSO, G., O. A. M. LEWIS, D. S. MILLER, P. R. PAYNE
Effect of heat treatment on the nutritive value of proteins: Chemical and balance studies.
J.Sci.Fd.Agric. 13, 192 (1962)

17. DÜMMER, H. W. Untersuchungen zur Aminosäurenverfügbarkeit bei hitzegeschädigten Proteinen.
1. Erhitzung von Proteinen allein und mit Glukose.
Med.vet.Diss. München (197o)

18. EDWARDS, W. F., BALZAC
Memoire sur les propriétés alimentaires de la gélatine.
Ann.Sc.Natzr. 26, 318 (1832)

19. EGGUM, B. O. Das Verhältnis zwischen der Aminosäurenzusammensetzung und der Biologischen Wertigkeit.
Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 22, 32 (1967)

2o. ELDRED, N. R., G. RODNEY
The effect of proteolytic enzymes on raw and heated casein.
J.Biol.Chem. 162, 261 (1946)

21. ERBERSDOBLER, H.
Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäurenschädigung bei Hitzebehandlung von Nahrungs- und Futtermitteln.
Habilitationsschrift München (1967)

22. ERBERSDOBLER, H.
Verfügbarkeit der Aminosäuren nach Hitzeschädigung von Proteinen.
Wiss.Z. Uni.Rostock, 18, M 1/2, 121 (1969)

23. ERBERSDOBLER, H.
Neuere Erkenntnisse zur Frage der Proteinschädigung durch Hitzebehandlung.
Kraftfutter, 53, 172+288 (1970)

24. ERBERSDOBLER, H.
Zur Lysinschädigung bei Hitzebehandlung von Nahrungs- und Futtermitteln.
Chemie und Landwirtschaftliche Produktion herausgegeben von der Landwirtschaftlich-chemische Bundesversuchsanstalt Wien 1971, S.215

25. ERBERSDOBLER, H.
Über Untersuchungen zur intestinalen Resorption von Epsilon-Fruktoselysin.
Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 28, 171 (1971)

26. ERBERSDOBLER, H., H. DÜMMER, H. ZUCKER
Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäurenschädigung bei Hitzebehandlung von Nahrungs- und Futtermitteln.
2. Mitt. Der Einfluß der Aminosäurenverfügbarkeit auf die Anflutung freier Aminosäuren im Pfortaderplasma.
Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 24, 136 (1968)

27. ERBERSDOBLER, H., H. ZUCKER
Untersuchungen zum Gehalt an Lysin und verfügbarem Lysin in Trockenmagermilch. Milchwiss. 21, 564 (1966)

28. FINOT, P. A., J. BRICOUT, R. VIANI, J. MAURON
Indentification of a new lysine derivative obtained upon acid hydrolysis of heated milk. Experienta 24, 1o97 (1968)

29. FOLIN, O.
Laws governing the chemical composition of urine. Amer.J.Physiol. 13, 66 (19o5)

3o. FORD, J. E., K. M. HENRY, I. W. G. PORTER
Amino acid digestibility as a measure of amino acid availability. Proc.Nutr.Soc, 26 ix (1967)

31. FORD, J. E., C. SHORROCK
Metabolism of heat-damaged protein in the rat. Influence of heat-damage on the excretion of amino acids and peptides in the urine. Br.J.Nutr. 26, 311 (1971)

32. FOURCROY, A. F.
Philosophie chimique ou vérités fondamentales de la chimie moderne. Du Pont, Paris 1'an III de la République

33. GEBHARD, G.
Untersuchungen über den Einfluß einiger Vitamine auf den endogenen und exogenen Eiweißumsatz an wachsenden Albinoratten. Arch.Tierern. 5, 7o (1955)

34. GREAVES, E. O., A. F. MORGAN, M. K. LOVEEN
The effect of amino-acid supplements and of variations in temperature and duration of heating upon the biological value of heated casein. J.Nutr. 16, 115 (1938)

35. HENNING, A.
Versuche über den Stickstoffgrundumsatz und zur biologischen Eiweißwertigkeit bei Schweinen unter besonderer Berücksichtigung volljähriger, weiblicher Tiere. Arch.Tierern. 9, 29 (1959)

36. HERRMANN, U., F. KREIENBRING
Untersuchungen über die Proteinverdaulichkeit und die Aminosäurenresorbierbarkeit an Küken bei unterschiedlichen Proteineinnahmen. Wiss.Z.Uni.Rostock, 18, M1/2, 1o5 (1969)

37. HEYNS, K., HEUKESHOVEN, K. H. BROSE
Der Abbau von Fruktose-Aminosäuren zu N-(2-Furoylmethyl)aminosäuren. Zwischenprodukte von Bräunungsreaktionen. Angew. Chemie 80, 627 (1968)

38. HEYNS, K., H. PAULSEN
Über die chemischen Grundlagen der Maillard-Reaktion. Wiss. Veröffentl. d. Deutsch. Ges. f. Ernährung "Veränderung der Nahrung durch industrielle und haushaltsmäßige Verarbeitung" Dr. Dietrich Steinkopf Verlag, Darmstadt (1960) S. 15

39. HODGE, I. E. Dehydrated foods. Chemistry of browning reaktions in model systems. J. Agr. Food. Chem. 1, 928 (1953)

40. KAUFMANN, M. Über den Ersatz von Eiweiß durch Leim im Stoffwechsel. Pflüg.Arch.f.d.ges.Physiol. 109, 440 (1905)

41. KOSSEL, A., F. KUTSCHER
Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper. Z.Phys.Chemie 31, 165 (1901)

42. KUIKEN, A., C. M. LYMAN
Availability of amino acids in some foods. J.Nutr. 36, 359 (1948)

43. LEA, C. H., R. S. HANNAN
Studies of the reaction between proteins and reducing sugars in the dry state. III. Nature of the protein groups reacting. Biochim.Biophys.Acta 5, 433 (1950)

44. LIEBIG v., J. Tierchemie oder die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie. Vieweg u. Sohn, Braunschweig 1842

45. MAGENDIE, F. Précis élémentaire de Physiologie. Mequigonons-Marvis, Paris 1816/17

46. MAGENDIE, F. Rapport de la Collission dite de la gélatine Compt.Rend., 13, 237 (1841)

47. MAILLARD, L. C.
Action des acides aminées sur les sucres. Formation de melanoidines par voie methodique. Compt. rend. hebd. Séanc. Acad. Sci 154, 66 (1912)

48. MAURON, J. Le comportement chimique des protéines lors de la préparation des aliments et ses incidences biologiques.
J. Int. Vitaminol. 4o, 2o9 (197o)

49. McCOY, R. H., C. E. MEYER, W. C. ROSE
Feeding experiments with mixtures of highly purified amino acids.
VIII. Isolation and indentification of a new essential amino-acid.
J. Biol. Chem. 112, 283 (1936)

5o. MELNICK, D., B. L. OSER
The influence of heat-processing on the functional and nutritive properties of protein.
Fd. Technol. 3, 57 (1949)

51. MILLER, D. S., P. R. PAYNE
Problems in the prediction of protein values of diets. The influence of protein concentration.
Br. J. Nutr. 15, 11 (1961)

52. MILLER, E. L., K. J. CARPENTER, C. K. MILNER
Availability of sulfur amino acids in protein foods.
3. Chemical and nutritional changes in heated cod muscle.
Br. J. Nutr. 19, 547 (1965)

53. MITCHELL, H. H.
The biological value of proteins at different levels of intake.
J. Biol. Chem. 58, 9o5 (1923-1924)

54. MITCHELL, H. H.
The supplementary relations among proteins.
J. Biol. Chem. 58, 923 (1923-1924)

55. MITCHELL, H. H.
A method of determining the biological value of proteins.
J. Biol. Chem. 58, 873 (1923-1924)

56. MITCHELL, H. H., M. H. BERT
The determination of metabolic fecal nitrogen.
J. Nutr. 52, 483 (1954)

57. MITCHELL, H. H., R. J. BLOCK
Some relationships between the amino acid contents of proteins and their nutritive values for the rat.
J. Biol. Chem. 163, 599 (1946)

58. MITCHELL, H. H., G. G. CARMAN
The biological value of the nitrogen of mixtures of patent white flour and animal foods.
J. Biol. Chem. 68, 183 (1926)

59. MOORE, S.
On the determination of cystine as cysteic acid.
J. Biol. Chem. 238, 235 (1963)

6o. MOTTU, F., J. MAURON
The differential determination of lysine in heated milk.
II. Comparison of the in vitro methods with the biological evaluation.
J. Sci. Fd. Agric. 18, 57 (1967)

61. MULDER, G. J. Über die Zusammensetzung einiger tierischer Substanzen.
J. Prakt. Chem. 16, 129 (1839)

62. NESHEIM, M. C., K. J. CARPENTER
The digestion of heat-damaged protein.
Br. J. Nutr. 21, 399 (1967)

63. NEUMANN, R. O.
Die Wirkung des Alkohols als Eiweißsparer.
Arch. Hyg. 41, 85 (19o2)

64. OSBORNE, T. B., L. B. MENDEL
Amino-acids in nutrition and growth.
J. Biol. Chem. 17, 325 (1914)

65. OSBORNE, T. B., L. B. MENDEL
Protein minima for maintainance.
J. Biol. Chem. 22, 241 (1915)

66. OSBORNE, T. B., L. B. MENDEL, E. L. FERRY
A method of expressing numerically the growth promoting value of proteins.
J. Biol. Chem. 37, 223 (1919)

67. OSER, B. L. In: A. A. ALBANESE
Protein and amino acid nutrition.
Chapter 1o, Academic Press, New York - London (1959)

68. OZDY, D. Med. vet. Diss. München (in Vorbereitung)

69. PAYNE, W. L., G. F. COMBS, R. R. KIFER, D. G. SNYDER
Investigation of protein quality - ileal recovery of amino acids.
Fed. Proc. 27, Nr. 5 (1968)

7o. POPPE, S., H. KRISTEN, H. MEIER, H. UHLEMANN, W. WIESEMÜLLER
Untersuchungen über die Aminosäuren-Absorption aus verschiedenen Proteinträgern. II. Vergleichende Untersuchungen über die Proteinverdaulichkeit und Aminosäuren-Absorption bei wachsenden Schweinen.
Wiss. Z. Uni Rostock, 18, M 1/2, 71, (1969)

71. POPPE, S., H. KRISTEN, H. MEIER, H. UHLEMANN, W. WIESEMÜLLER
Untersuchungen über die Aminosäuren-Absorption aus verschiedenen Proteinträgern. III. Zur Absorption von 8 essentiellen Aminosäuren aus verschiedenen Futtermitteln bei Küken.
Wiss. Z. Uni Rostock, 18, M 1/2, 77, (1969)

72. POPPE, S., H. MEIER, H. UHLEMANN
Untersuchungen über die Aminosäuren-Resorption aus verschiedenen Proteinträgern bei Ratten.
II. Bestimmung der Darmverlustaminosäuren.
Arch. Tierern. 21, 161 (1971)

73. RICE, E. E., J. F. BEUK
The effects of heat upon the nutritive value of protein.
Food. Res. 4, 233 (1953)

74. RIOS-IRIARTE, B. J., R. H. BARNES
The effect of overheating on certain nutritonal properties of the protein of soybeans.
Food. Technol. 2o, 835 (1966)

75. ROSE, W. C. The nutritive significance of the amino acids and certain related compounds.
Science, 86, 298 (1937)

76. ROSE, W. C. The nutritive significance of the amino acids.
Physiol. Rev. 18, 1o9 (1938)

77. RUBNER, M. Über die Ausnutzung einiger Nahrungsmittel im Darmkanal des Menschen.
Z. Biol. 15, 115 (1879)

78. RUBNER, M. Physiologie der Nahrung und Ernährung. Im Handbuch der Ernährungstherapie. G. Thieme, Leipzig 1897

79. RUBNER, M. Beiträge zur Lehre vom Eiweißstoffwechsel mit besonderer Berücksichtigung kohlehydratreicher Gemische. Arch. Anat. Physiol. Abt. 24 (1919)

8o. RUFEGER, H. Ein neuer Weg zur biologischen Proteinbewertung mit Hilfe einer N-Bilanzfunktion, zugleich ein Beitrag zur Theorie des N-Stoffwechsels. Habilitationsschrift Gießen (197o)

81. RUFEGER, H. Ein einfaches Verfahren zur Körper-N-Bestimmung bei Ratten, zugleich ein Beitrag zur Verbesserung der Kjeldahl-Analyse. Z.Tierphysiol.Tierern. 22, 189 (1966/67)

82. RUFEGER, H. Untersuchungen über die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Z.Tierphysiol. Tierern. 22, 49 (1966/67)

83. SACHS, L. Statistische Auswertungsmethoden. Springer-Verlag 1968

84. SALTER, D. N., M. E. COATES
The influence of the gut microflora on the digestion of protein in chicks. Excerpta Media International Congress Series Nr. 213, Proceedings of the eight international congress on nutrition. Praque, Czechoslovakia, 1969

85. SCHEFFNER, A. L., J. B. KIRSNER, W. L. PALMER
Amino acids in faeces. J. Biol. Chem. 176, 89 (1948)

86. SCHILLER, K. Ein Stoffwechselkäfig für Ratten. Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 15, 3o5 (196o)

87. SCHILLER, K. Die Wirkung von Dampferhitzen (Toasten) auf die Biologische Eiweißwertigkeit von Sojaextraktionsschrot. II. Zur Frage der Proteinschädigung durch zu langes Toasten. Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 19 322 (1964)

88. SCHROEDER, L. J., M. JACOBELLIS, A. H. SMITH

Heat processing and the nutritive value of milk products.
J.Nutr. 49, 549 (1953)

89. SMITH, R. E., H. M. SCOTT

Measurement of amino acid content of fish mal proteins by chick growth assay.
1. Estimation of amino acid availability in fishmeal proteins before and after heat treatment.
Poult. Sci. 44, 4o1 (1965)

9o. SMITH, R. E., H. M. SCOTT

Use of free amino acid concentrations in bloodplasma in evaluating the amino acid adequacy of intact proteins for chick growth.
I. Free amino acid patterns of bloodplasma of chicks fed unheated and heated fishmeal proteins.
J.Nutr. 86, 37 (1965)

91. SNOOK, J. T., J. H. MEYER

Factors influencing the significance of endogenous nitrogen to the nonruminant.
The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism.
H. N. Munro, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1964

92. SOARES, J. H. Jr., R. R. KIEFER

Evaluation of protein quality based on residual amino acids of the ileal contents of chicks.
Poult. Sci. 5o, 41 (1971)

93. SPACKMAN, D. H., W. H. STEIN, S. MOORE

An automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids.
Analyt. Chem. 3o, 119o (1958)

94. THOMAS, K. Über die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanzen in verschiedenen Nahrungsmitteln. Beiträge zur Frage nach dem physiologischen Stickstoffminimum.
Arch.Anat. u. Physiol., Physiol. Abt.,-, 219 (19o9)

95. VALLE-RIESTRA, J., R. H. BARNES

Digestion of heat-damaged egg albumin by the rat.
J. Nutr. 1oo, 873 (197o)

96. VOIT, C. Über die Ausscheidungswege der stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte aus dem tierischen Organismus.
Z.Biol. 2, 189 (1866)

97. VARNISH, S. A., K. J. CARPENTER
A comparsion of ileal and faecal analysis to determine the availability of dietary amino acids.
Proc. of the nutrition society.
Abstracts of communications, 3o,7oA (1971)

98. WIESEMÜLLER, W., S. POPPE
Die Bewertung der Proteine durch die Bestimmung der N-Bilanz.
5. Die Bestimmung der wahren Verdaulichkeit bei N-Bilanzversuchen mit verschiedenen Proteingehalten in den Rationen.
Arch. Tierern. 19, 149 (1969)

99. WILLCOCK, E. G., F. G. HOPKINS
The importance of individual amino acids in metabolism. Observations in the effect of adding tryptophane to a diet . . in which zein is the sole nitrogenous constituent.
J. Physiol. 35, 88 (19o6)

1oo. WEBER, G. Untersuchungen zur Aminosäurenverfügbarkeit bei hitzegeschädigten Proteinen.
II. Erhitzung von Proteinen allein und mit Fetten
Med. vet. Diss. München 1972

1o1. WOLFF, E., C. KREUZHAGE, T. MEHLIS
Pferdefütterungsversuche
Landw. Jahrb. 16, Suppl. III, 1 (1887)

1o2. YOSHIDA, A., K. MORITOKI, Y. KIRAI
Effect of heat on the nutritive value of freeze dried egg-white.
1. Condition of heating and the supplemental effect of amino acids.
J. Jap. Soc. Food Nutrition 22, 26 (1969)

1o3. ZIMMERMANN, G. Die Wirkung der Hitzebehandlung auf den Nährwert des Eiweißes in Nahrungs- und Futtermitteln.
Diss. Zürich 1952

1o4. ZUCKER, H., W. D. HABEDANK, L. KORNDÖRFER, E. SCHARRER
Untersuchungen über den Verzehrrückgang bei proteinreicher Ernährung.
4. Die intestinale Trypsinaktivität bei Probemahlzeiten nach unterschiedlicher Proteinadaption.
Z.Tierphysiol.Tierern.Futtermittelkde. 23, 2o5 (1968)

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich
Herrn Prof DDr. DDr. h. c. Johs. Brüggemann für die
Überlassung des Themas sowie für die sehr guten
Arbeitsbedingungen in seinem Institut herzlich danken.

Herrn Universitätsdozent Dr. Helmut Erbersdobler gilt
mein besonderer Dank für die mir jederzeit gewährte
Förderung und Anregung meiner Arbeit.

Frau Dipl. Ing. Kläre Schiller sei für manche Ratschläge
und für die zeitweilige Überlassung von Bilanzkäfigen
gedankt.

Die Arbeiten wurden mit Unterstützung der Deutschen
Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Lebenslauf

Am 16. August 1944 wurde ich, Ilona Gunsser,als Tochter des Kaufmanns Walter Gunsser und seiner Ehefrau Millie, geborene Haller, in Stuttgart geboren.
Von 1951-1963 besuchte ich die Freie Waldorfschule in Stuttgart und von 1964-1965 die Freie Waldorfschule in Benefeld.1965 schloß ich dort mit dem Abitur ab und immatrikulierte mich im selben Jahr an der Tierärzt= lichen Hochschule in Hannover.Von 1966-1971 studierte ich an der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München.Im Februar 1971 bestand ich die Tierärzt= liche Prüfung.
Die Bestallung als Tierarzt wurde mir im März 1971 erteilt.

BAMBERGER FOTODRUCK · RUDOLF RODENBUSCH
8600 BAMBERG · Pödeldorferstr. 83 Telefon 0951/31269